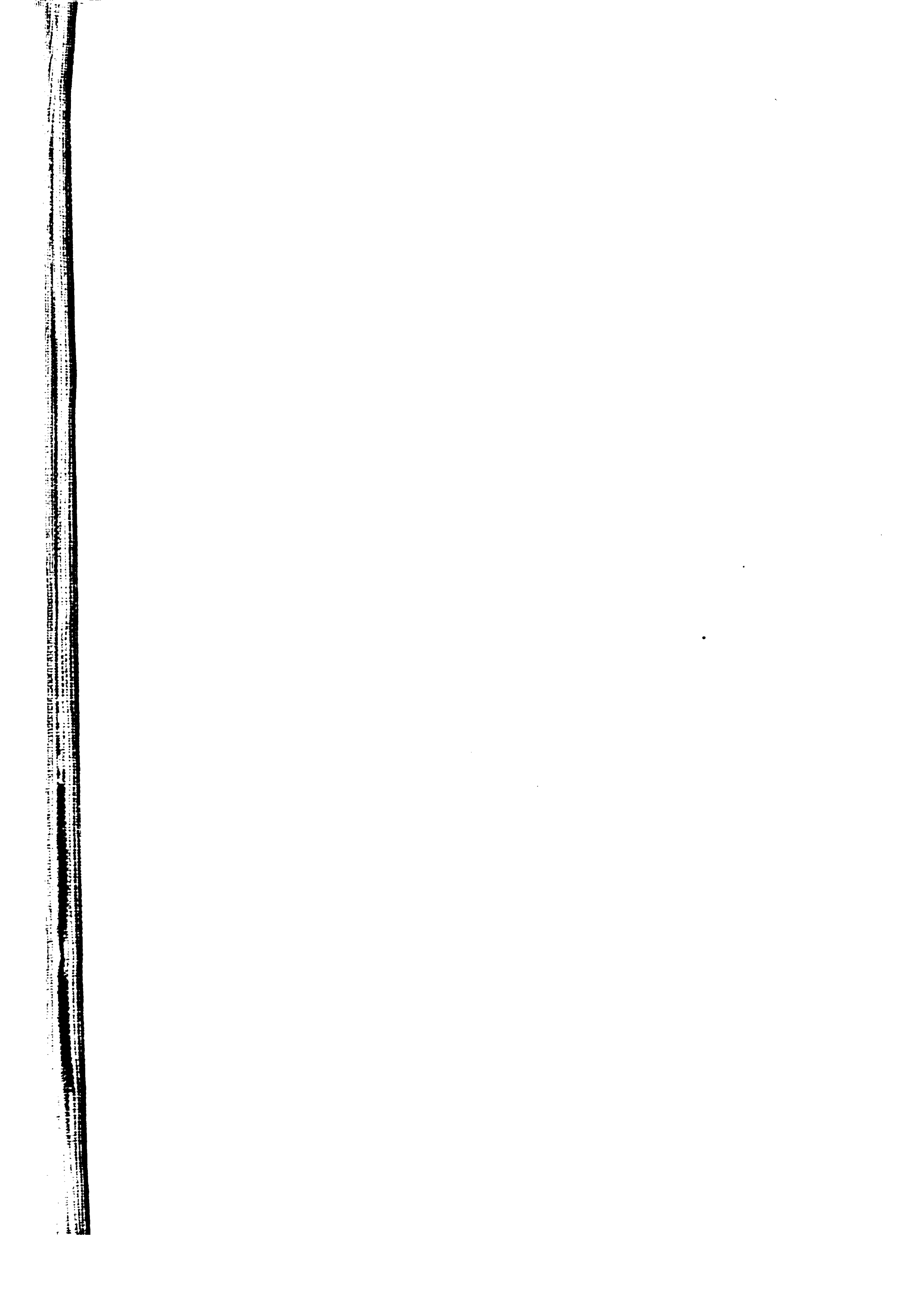
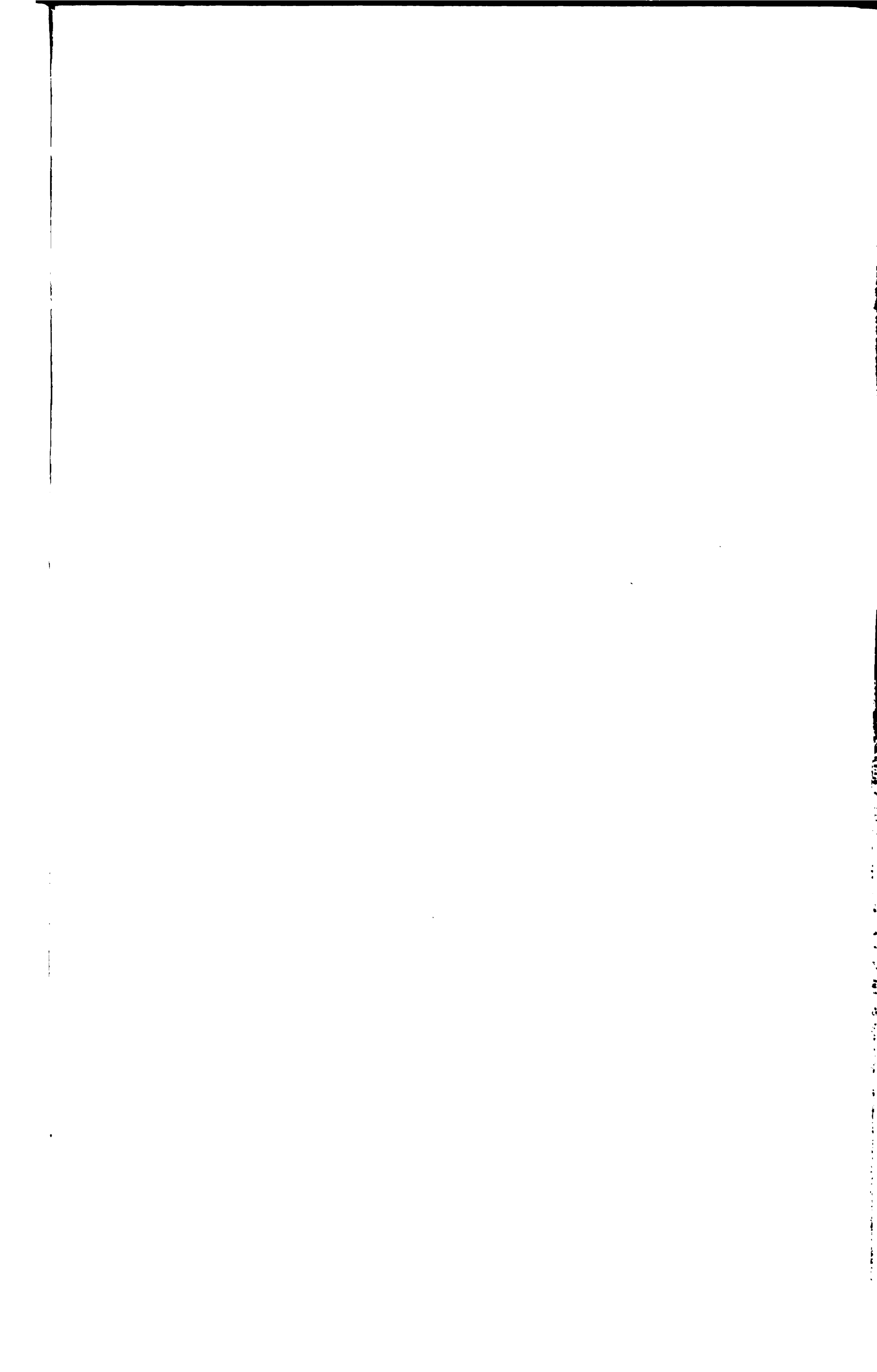

UC-NRLF
B 3 789 201







CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh. Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 98. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 112 Abbildungen im Text und 5 Tafeln



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1926

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 98. Heft 1/2.

Ausgegeben am 1. März 1926.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Differenzierung der Streptokokken.

[Katheder der medizinischen Mikrobiologie der Lettländischen Universität (Leiter: Prof. Dr. med. V. Klimenko).]

Von Subassistent **Nik. Stolygvo.**

Bekanntlich krankt die Frage der Differenzierung der Streptokokken, ungeachtet der kolossalen Anzahl der auf diesem Gebiete unternommenen Arbeiten, zurzeit noch an großer Unvollständigkeit und Ungenauigkeit. Bis jetzt kommen nicht selten Fälle vor, wo wir nicht einmal den Streptococcus pyogenes und den Streptococcus lanceolotus s. Pneumococcus differenzieren können; so stark variieren die verschiedenen Eigenschaften dieses Mikroorganismus (1).

1903 schlug Hugo Schottmüller eine Einteilungsmethode der Streptokokken in Arten nach der Veränderung von Nährböden mit Blutzusatz vor (2). Nach 25jähriger Arbeit auf diesem Gebiete ist es diesem Autor auch heute noch möglich, auf dem alten Standpunkte zu beharren (3). Des öfteren jedoch haben wir mit der Tatsache zu rechnen, daß einige der für die einzelnen Streptokokkenarten als charakteristisch angegebenen Merkmale so schwach ausgeprägt sind, daß man sie mit Sicherheit nicht konstatieren kann. Eine der allerwichtigsten Eigenschaften der Streptokokken, die Bildung von Hämolysinen, kennzeichnet in größerem oder geringerem Maße alle Streptokokken (4).

In Anbetracht dessen und infolge anderer Faktoren, deren genauere Betrachtung wir hier nicht für nötig finden, ist eine Einigung der verschiedenen Autoren inbetreff der Tauglichkeit der Blutplatten Schottmüllers als Differenzierungsnährboden für Streptokokken bis heute noch nicht erreicht worden. Eine ganze Reihe von Autoren kommt daher in ihren Arbeiten zu dem Schlusse, daß die Gruppe des Str. pyogenes durch Uebergangsformen mit derjenigen des Str. lanceolatus und Str. mucosus, inclusive verbunden ist (Babes, Pasquale, Lemoine, Vidal u. Besancon, Kruse u. Pansini, Petruschky, Lehmann u. Neumann sprechen den Wunsch nach einem Mittel aus, mit Hilfe dessen man wenigstens schematisch diese beiden Streptokokkengruppen, die so verschieden in ihren typischen Formen sind, trennen könnte (1, S. 179).

Wir halten es für nötig, unsere Beobachtungen, die wir inbezug der Veränderung von Nährböden mit erhitztem Blut durch verschiedene Streptokokkenarten und Pneumokokken gemacht haben, zu beschreiben, da die Eigenschaften bestimmter Gruppen von Streptokokken in dieser Beziehung in unseren Experimenten beständige waren.

Bei Einteilung der Streptokokken in Arten benutzten wir hauptsächlich die im Handbuche der Bakteriologischen Diagnostik von Lehmann und Neumann gesammelten Daten und die Methode Schottmüllers.

Mit geringen Ausnahmen (ausländische Stämme) experimentierten wir mit frisch gezüchteten Kulturen. Als Differenzierungs-Nährboden diente uns eine Modifikation des Kochblutagars Bieling, und zwar bereiteten wir den Nährboden auf folgende Weise: In ein Reagenzröhrchen, das 8—10 ccm steriler $1^1/_2$proz. Lösung zitronensauren Na-

trons in Nährbouillon (oder physiol. Kochsalzlösung) enthält, bringen wir 5 ccm, durch Venenpunktion erhaltenen menschlichen Blutes (das zitronensaure Natron verhindert die Gerinnung des Blutes). Das derart entnommene Blut wird durchgeschüttelt und auf mehrere Std., bis Erythrozytensenkung eingetreten, in den Eisschrank gestellt. Sodann wird der Ueberschuß an Flüssigkeit über den Niederschlag mit einer Pipette abgesogen, der Rest durchgeschüttelt und unter Wahrung der Sterilität in einen Kolben mit 200 g geschmolzenen und auf 45—50° abgekühlten Agars gegossen. Dann wird die erhaltene Blutagarmischung allmählich solange erwärmt, bis der Nährboden eine schokoladenbraune und schließlich milchkaffeeartige Färbung annimmt, was von der Veränderung des Bluthämoglobins abhängt. Sodann wird der erhitzte Blutagar von neuem bis auf 45—50° abgekühlt, geschüttelt, in Petri-Schalen gegossen, nach völligem Festwerden auf Sterilität kontrolliert und dann in Gebrauch genommen. Auf diese Weise erhalten wir eine Mischung von erhitztem Blutagar, die vollkommen homogen ist. Eine Ueberhitzung des Blutnährbodens ist zu vermeiden, da sonst oft die Eiweißstoffe des Blutes in großen Flocken koaguliert werden und der Nährboden seine Homogenität einbüßt.

In der Folge haben wir mit demselben Erfolge auch eine andere Modifikation dieses Nährbodens angewandt, die darin besteht, daß wir statt der zitronensauren Natronlösung destilliertes Wasser gebrauchten. Das Wasser hämolysiert das Blut und dank dem kommen die gelösten Blutfarbstoffe nicht zur Gerinnung (wenn auch nur teilweise). Des weiteren wird wie bei der ersten Modifikation verfahren.

Bei der Beobachtung des Wachstums verschiedener Bakterien auf diesen Nährböden konnten wir feststellen, daß Streptokokken und Diplokokken einer bestimmten Gruppe eigenartige Veränderungen dieser Nährböden hervorrufen, und zwar eine starke Entfärbung der milchkaffeebraunen Färbung.

Wir haben eine große Anzahl Bakterien, sowohl pathogener als auch Saprophyten, inbezug auf Art des Wachstums auf Nährböden mit erhitztem Blut untersucht. Die Entfärbung des erhitzten Blutnährbodens verursachten jedoch nur die Streptokokkenformen des Typus Streptococcus lanceolatus (Pneumococcus), Streptococcus mucosus und Streptococcus mitior, wie auch verschiedene atypische Formen desselben Typus.

Andererseits wurde diese Eigenschaft nie bei den typischen und atypischen Vertretern des Streptococcus pyogenes, s. haemolyticus longus konstatiert.

Wir bemerken noch, daß von vielen Autoren des öfteren auf die Verwandtschaft des Streptoc. lanceolatus, mucosus und mitior hingewiesen worden ist.

So halten z. B. Rich. Levy, Park und Williams u. a. den Streptoc. mucosus für eine Variante des Streptoc. lanceolatus, welche nur viel deutlicher schleimbildend sei[1]) Daher leiten diese Autoren die Namen ab: Streptococcus lanceolatus, var. mucosus, Pneumococcus mucosus anstatt Streptococcus mucosus (5). Der Streptococcus mitior wird von einigen ebenso als eine abgeschwächte Form des Streptoc. lanceolatus angesehen.

---

1) Nach den untengenannten Autoren gehört der Str. mucosus zur 3. Gruppe der Pneumokokken.

Ohne uns jedoch auf die Kritik dieser Darlegungen einzulassen, gehen wir zur weiteren Beschreibung unserer Beobachtungen über:

Die Entfärbung des erhitzten Blutagars durch die Streptokokkengruppen wird gewöhnlich nach 18 Std. (bei 37° C) Wachstums eine deutliche und erreicht ihren Höhepunkt nach 24—48 Std. Bekanntlich erreichen die Kolonien in dieser Zeit des öfteren eine makroskopisch kaum sichtbare Größe. Länger dauert der Prozeß mit den Streptoc. mitior-Kulturen, die überhaupt sich langsamer als die anderen Formen entwickeln.

In allen den Fällen, wo die „Entfärbung" konstatiert worden war, war sie eine so deutliche, daß ein Zweifel an ihrem Bestehen nicht aufkommen konnte. Nicht selten war dagegen beim Ueberimpfen einiger Streptoc. lanceolatus- und mitior-Kulturen das Wachstum so schwach, daß makroskopisch die Unterscheidung der einzelnen Kolonien nicht möglich war, während der Nährboden im Reagenzröhrchen schon deutlich, oft vollständig entfärbt worden war.

Diese Eigenschaft einer bestimmten Streptokokkengruppe bemerkend, fingen wir, und zwar mit vollem Erfolge, an, Aussaaten von Sputum, Tonsillarabstrichen, Nasenrachensekret und anderen Materialien auf erhitztem Blutagar zu machen, wobei uns dieser Blutagar als Indikator zur Ausscheidung dieser Streptokokken diente.

Im ganzen sind von uns 182 Streptokokkenkulturen verschiedenen Ursprungs untersucht worden, die sich folgendermaßen auf die einzelnen Gruppen verteilen:

Entfärben erhitzten Blutagars	Streptococcus lanceolatus der typischen Form[1])	24	Kulturen
	„ „ „ atypischen „ [2])	121	„
	„ mucosus[3])	10	„
	„ mitior	4	„
Entfärben nicht erhitzten Blutag.	„ haemolyticus, s. pyogen. longus	22	„
	„ anhaemolyticus vaginalis	1	Kultur

Der größte Teil der 159, für vorliegende Arbeit benutzten, erhitzten Blutagar entfärbenden Kulturen war aus dem Sputum von Kranken oder den Lungen von sezierten Leichen, die an Bronchopneumonie, Influenza oder Tuberkulose gelitten hatten, gewonnen, eine geringere Anzahl typischer Streptoc. lanceolatusformen von Kranken an krouposer Pneumonie und von an Kindergrippe Verstorbenen. Weiter stammt eine bedeutende Zahl von Kulturen aus dem Rachensekret oder den Tonsillen Rheumatiker, oder auch Gesunder und an verschiedenen Entzündungsprozessen dieser Organe Leidenden, aus dem Nasensekret bei Rhinitis, von der gesunden und entzündeten Konjunktiva und zuguterletzt wurde eine Anzahl direkt aus dem Blut gewonnen.

Zur Gruppe der atypischen Streptoc. lanceolatusformen rechneten wir auch einige äußerst uncharakteristische Formen, welche bei Anwendung der gewöhnlichen Unterscheidungsmethoden schwer zu irgendeiner bestimmten Streptokokken- oder Pneumokokkengruppe gezählt hätten werden können. Zur Diagnose verhalf uns die Entfärbung erhitzten Blutes durch diese Stämme.

Unter den zu den Streptoc. pyogenes gezählten Kulturen waren auch einige, die in ihren Eigenschaften nicht genau dem typischen Ver-

1) Die 1. und 2. Gruppe nach der Einteilung von Dochez, Gillespie, Avery, Cole, Bull und anderen amerikanischen Autoren.
2) Die 4. Gruppe.
3) Die 3. Gruppe — Pneumococcus mucosus.

treter entsprachen. Auch in diesem Falle veranlaßte uns ihr Verhalten auf erhitztem Blut zur Abtrennung von den, den Pneumokokken verwandten Streptokokkengruppen.

Die Pathogenität der Kulturen hat auf die Entfärbung erhitzten Blutes gar keinen Einfluß.

Der Streptococcus haemolyticus s. pyogenes longus wurde aus verschiedenen Eiterungen, von Tonsillen,, von Erysipelaskranken (Streptoc. erysipelatos) erhalten, in einigen Sepsisfällen aus dem Blute, in 3 Fällen aus Sputum von Bronchepneumoniekranken.

Dieses Material muß natürlich vervollständigt werden, doch konnten wir auch auf Grund dieser Anzahl von Kulturen bestimmte Schlüsse ziehen:

Bei näherer Untersuchung des Wesens der Entfärbung erhitzten Blutes sehen wir, daß diese Erscheinung nicht das geringste mit der sogenannten Hämolyse (Lackfärbung), besser Lehmfärbung oder Entfärbung — Hämolyse und der weiteren Entfärbung des Hämoglobins unerhitzten Blutes), gemein hat, da jene Streptokokkenarten, die deutliche Hämolyse auf gewöhnlichem Blutnährboden (Streptoc. haemolyticus) erzeugen, sowie die stark hämolysierenden Staphylokokkenstämme nicht die mindeste Entfärbung erhitzten Blutes zeigen. Im Gegenteil wird die genannte Entfärbung erhitzten Blutes gerade bei jenen Streptokokkenformen, die ganz schwache, resp. gar keine Hämolyse auf Schottmüllers Blutagar ergeben, beobachtet.

Einige Stämme des Streptoc. pyogenes, die eine sehr schwache Hämolyse auf Schottmüller-Blutagar erzeugen, sowie der Streptococcus anhaemolyticus vaginalis entfärben erhitztes Blut nicht, während die von uns benutzten Streptoc. lanceolatus-Kulturen, welche mehr oder weniger bemerkbare Hämolyse auf Schottmüllers Blutagar zeigten, erhitztes Blut deutlich entfärben. Daraus schließen wir, 1. daß wir über die hämolysierende Kraft nach der Entfärbung erhitzten Blutes nicht urteilen können; 2. konstatieren wir, daß die Entfärbung erhitzten Blutes eine beständigere und sichere Arteigenschaft zur Differenzierung der Streptokokken, als die Hämolyse und die Entfärbung nicht erwärmter Blutnährböden ist. Eher zulässig erscheint die Annahme eines Zusammenhangs zwischen der beschriebenen Entfärbung erhitzten Blutes und der Bildung grünen Pigments (aus Hämoglobin) auf dem gewöhnlichen Blutagar Schottmüllers.

Die Streptokokkenarten, die hauptsächlich nach der grünen, dunkelgrünen, graugrünen bis schwarzgrünen Farbe der Kolonien nach Schottmüller differenziert werden, sind gerade jene, die die Eigenschaft der Entfärbung erhitzten Blutes besitzen. Es ist möglich, daß Produkte der Lebenstätigkeit der Bakterien, die die Blutpigmente der unerwärmten Nährböden Schottmüllers mit Bildung grüner Verfärbung verändern, auch bei der Entfärbung erhitzten Blutes eine Rolle spielen. Diese Annahme muß jedoch noch durch weitere Experimente bekräftigt werden, insbesondere da eine quantitative Uebereinstimmung zwischen der Stärke der Grünfärbung der Schottmüllerschen Blutnährböden einerseits und der Entfärbung erhitzten Blutes andererseits von uns nicht konstatiert werden konnte. Als Entgegnung gegen die Analogisierung der Stoffe, die das Grünwerden auf dem einen und die Entfärbung auf dem anderen Nährboden verursachen, kann noch folgende Tatsache dienen: Einige, nach Lehmann und Neumann die Mehrzahl (1. S. 167) der Streptococcus mitior-

Stämme besitzen nicht die Eigenschaft der Grünfärbung, resp. diese ist sehr schwach ausgesprochen. Solche Kulturen standen uns (wenn auch nur in 2 Fällen) zur Verfügung und riefen eine Entfärbung erhitzten Blutes hervor, vielleicht in etwas geringerem, immerhin jedoch in deutlich nachweisbarem Maße. Dasselbe bezieht sich auch auf einige atypische Streptoc. lanceolatus-Kulturen, die nicht genügend charakteristisch oder schwach die grüne Verfärbung der Nährböden Schottmüllers ergaben.

Daher ist unserer Meinung nach die Beobachtung der Entfärbung erhitzten Blutes ein genaueres und zuverlässigeres Mittel zur Differenzierung der Streptokokken, als die Hämolyse und das Grünwerden auf Schottmüllers Blutagar.

Von Morgenroth und seinen Mitarbeitern ist beschrieben worden, daß einige Kulturen des Streptococcus haemolyticus longus unter entsprechenden Bedingungen die Eigenschaft von Schottmüllers Blutagar, zu hämolysieren, verlieren und die Fähigkeit der Vergrünung, die mit der für Vertreter der Pneumokokken und des Streptoc. mitior s. viridans charakteristischen identisch ist, erlangen, weshalb Kussinsky und Wolff die beiden Formen dieser Mikroorganismen identifizieren. Schottmüller ist es auch gelungen, ähnliche Kulturen nach Durchführung nichtvirulenter Streptoc. pyogenes-Stämme durch den Mäuseorganismus zu erhalten; doch verneint er, auf die biologischen Eigenschaften solcher experimentell anhämolytischen Stämme hinweisend, ihre Identität mit primär anhämolytischen Pneumokokken, und hält die „Vergrünung", die nichts gemeinsames mit der durch Pneumokokken und Streptoc. mitior hervorgerufen haben soll, für eine Abschwächung ihrer hämolytischen Fähigkeit. Schottmüller empfiehlt deshalb, um Mißverständnissen vorzubeugen, den Terminus „Vergrünung" durch „Hämolyseverlust" zu ersetzen (3, S. 36). Wir erhielten nach der Methode Schottmüllers mittels Durchführen einer typischen, doch nicht pathogenen, von der Tonsille eines Gesunden erhaltenen Kultur durch den Mäuseorganismus eine ähnliche Str. pyogenes-Form, die anhämolytisch geworden war (wenn auch nicht vollkommen). Eine Aussaat dieser Kultur auf erhitztem Blutagar ergab nicht die geringste Entfärbung desselben, was darauf hinweist, daß unsere Str. longus-Kultur keine neuen Eigenschaften erworben hatte und in keine andere Art übergegangen war. Hierdurch wird einerseits die Meinung Schottmüllers bekräftigt, andererseits die Nützlichkeit der Anwendung erhitzten Blutes in solchen schwierigen Fällen aufs neue erwiesen.

Inbetreff der Erforschung der Widerstandsfähigkeit jener Stoffe, welche die beschriebene Aenderung des erhitzten Blutes hervorrufen, haben unsere Experimente erwiesen, daß dieselben Faktoren, die für die Streptokokken selbst schädlich sind, auch die Wirksamkeit der bezeichneten Agenzien vernichten. In einem Falle beobachteten wir die Erscheinung, daß eine Pneumokokkenbouillonkultur, die allmählich bis 50° C erwärmt und dann abgekühlt worden war, beim Uebersäen lebend blieb und die erhitztes Blut entfärbenden Stoffe von neuem zu bilden vermochte, während das Filtrat derselben Bouillonkultur gar keine Aenderung erhitzten Blutes mehr hervorrufen konnte. Daher können wir annehmen, daß die von den Streptokokken gebildeten, Entfärbung hervorrufenden Stoffe sehr unbeständig sind.

Wir versuchten auch, zwecks genauerer Differenzierung der ver-

schiedenen Stämme, die charakteristischen Erscheinungsformen der Kolonien auf erhitztem Blutagar festzustellen. In dieser Beziehung ist es uns jedoch nicht gelungen, zu bestimmten Resultaten zu gelangen, da das äußere Aussehen der Kolonien bei den verschiedenen Stämmen, ja sogar denselben Stämmen, beim Ueberimpfen äußerst stark variiert. Dieses hängt von den verschiedenartigsten Momenten ab (den individuellen Eigenschaften der verschiedenen Kulturen, der Involution, den Temperaturschwankungen usw.), welche häufig überhaupt nicht feststellbar sind. Zum Beispiel weisen wir auf eine ziemlich große Anzahl von erhitztes Blut entfärbenden Streptokokkenstämmen hin, welche in frischgezüchtetem Zustande ganz flache, runde, im Durchmesser bis 2 mm große Kolonien, mit erhabenem Rande und Zentrum darboten, die beim Ueberzüchten auf unsere Nährböden feiner, saftiger, tautropfenähnlich wurden und zuletzt bei noch weiterem Ueberimpfen, besonders auf etwas ausgetrocknete Nährböden, trocken, sehr klein und makroskopisch nicht sichtbar waren, so daß ihr Wachstum nur aus der progressierenden Entfärbung des erhitzten Blutes konstatiert werden konnte. Es erscheint also die Form der von den verschiedenen Streptokokkenstämmen auf dem von uns benutzten erhitzten Blutagar gebildeten Kolonien ebenso unbeständig und variierend, wie die Mehrzahl der anderen bekannten Eigenschaften der Streptokokken.

In der Zeit, in welcher wir das Material zur Bestätigung der in dieser Arbeit beschriebenen Beobachtungen sammelten, ist die Arbeit H. Prestings erschienen, in der der Autor die Beobachtungen der Veränderungen von Bielings Kochblutagar durch verschiedene Streptokokkenarten mitteilt. Diese Beobachtungen sind bis zu einem gewissen Grade unseren analog (6). Da Presting den Nährboden Bielings verwandte, dessen geringfügige Modifikation auch wir benutzten, kommen wir, seine Beobachtungen mit den unseren vergleichend, zu den folgenden Schlüssen:

Presting nennt die Veränderung von Bielings Kochagar, die durch die „grünenden" Streptokokken und Pneumokokken hervorgerufen wird, „Grünfärbung des Kochblutagars", während wir unseren Terminus „Entfärbung" für rationeller halten, da in diesem Falle der dunkelbraune (milchkaffeeartige) erhitzte Blutagar, dank der Zerstörung des Blutpigments seine braune Färbung verliert, ganz hell wird und die Farbe von Nähragar mit durch Erhitzung geronnenen Eiweißstoffen annimmt, indem er weißlich, milchig, jedoch nicht grün wird. Weiterhin schlägt Presting vor, die „grünenden" Streptokokken und Pneumokokken von den „hämolytischen" auf Grund dessen zu differenzieren, daß erstere als saftige, grünliche Kolonien mit gelbgrünlicher Randzone, die letzteren in Gestalt feiner, saftiger, zarter, grauer Kolonien, ohne Veränderung des Nährbodens wachsen. Bei Ausbleiben der „Grünung" des Kochblutagars hält Presting die Differenzierung der „hämolytischen" Kulturen von den nichthämolytischen für unmöglich. Oben haben wir schon darauf hingewiesen, daß die Eigenschaft, die man als hämolytisch zu bezeichnen pflegt, sowohl den zum Typus Streptococcus haemolyticus longus als auch der Mehrzahl der übrigen, auf Schottmüllers Blutagar grünwachsenden Streptokokkenstämmen eigen ist. Um Mißverständnissen vorzubeugen, vermeiden wir es überhaupt, wie oben genauer dargelegt worden ist, irgendeine Beziehung zwischen der Hämolyse und der Entfärbung erhitzten Blutagars aufzustellen. Was die Form der Kolonien,

welche in Prestings Arbeit genau beschrieben sind, anbetrifft, so wiederholen wir, daß wir in dieser Beziehung nichts Eindeutiges feststellen konnten. In allem Uebrigen gehen die Beobachtungen Prestings jedoch nicht mit den unseren auseinander.

Wenn wir alles in obiger Arbeit Gesagte noch kurz zusammenfassen, so kommen wir zum Schluß, daß die Eigenschaft bestimmter, untereinander verwandter Streptokokkengruppen (Str. lanceolatus, mucosus und mitior), erhitzten Blutagar zu entfärben, eine soweit beständige und leicht nachweisbare ist, daß sie, wenn auch nur zwecks gröberer Differenzierung der bezeichneten Gruppen von anderen Streptokokken, besonders dem Streptococcus haemolyticus longus, Bedeutung haben kann. Außerdem erscheint der erhitzte Blutagar als vorzüglicher Indikator bei der Trennung von Pneumokokken aus gemischtem Material verschiedenartigsten Ursprungs, da wir um die Kolonien der Pneumokokken und ihnen verwandter Formen auf erhitzten Blutagar schon in den frühesten Wachstumsstadien mit großer Beständigkeit eine helle Entfärbungszone entdecken, was bei bestimmten anderen Streptokokkenformen niemals zu beobachten ist. Als schwache Stelle der vorliegenden Arbeit erscheint uns die ungenügende Anzahl der Str. mitior-Stämme, da in dieser Beziehung unser Material sehr begrenzt war.

Literatur.

1) Lehmann u. Neumann, Bakter. Diagnostik. 1920. — 2) Münch. med. Woch. 1903. 20/21. — 3) Schottmüller, Leitfad. f. d. klin.-bakt. Kulturmethoden. — 4) Kolle u. Hetsch, Exper. Bakter. u. Infektionskr. 1922. — 5) Virch. Arch. 1907. — 6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1923. Bd. 90.

Zur Arbeit von H. Kapeller-Marburg „Ueber einen gelungenen Nachweis von Paratyphus B-Bazillen im Leitungswasser" (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. S. 8).

Von Prof. Dr. **H. E. Kersten,** Gelnhausen.

Zufällig kommt oben angegebene Arbeit zu meiner Kenntnis, die hinsichtlich des Resultates zweifellos Interesse verdient. Es sei mir als jetzigem Kreisarzt des Kreisarztbezirkes Gelnhausen-Schlüchtern erlaubt, einige Erklärungen und Ergänzungen, die sich nicht etwa auf das Untersuchungsergebnis, sondern lediglich auf die Wasserverhältnisse der Stadt Steinau im Kreise Schlüchtern beziehen sollen, zu geben. Diese können nach den Angaben von Kapeller, die wohl auf ungenügender Bezeichnung der Wasserproben beruhen, meines Erachtens völlig falsch beurteilt werden.

Aus letzteren muß entnommen werden, daß es ihm gelungen ist, aus den städtischen Wasserleitungen, also aus dem zum menschlichen Gebrauch dienenden Wasser, Paratyphus B-Bazillen zu isolieren. Dieses bakteriologisch an sich beachtenswerte Resultat wäre natürlich wenig schmeichelhaft für die städtischen Wasseranlagen. Epidemiologisch wäre es dann in diesem Falle sehr interessant und nach dem augenblicklichen

Stande der Paratyphus B-Bazillenfrage wichtig[1]), daß trotz der Wasserinfektion Erkrankungsfälle überhaupt nicht vorgekommen sind, wie die hier vorliegenden diesbezüglichen Listen zeigen. Kapeller erwähnt ja auch nur, daß einzelne Fälle im Kreise Schlüchtern, nicht in Steinau selbst, aufgetreten sind. Das trifft auch zu, die einzelnen Fälle betrafen ganz andere Gegenden des betreffenden Kreises und hingen örtlich mit Steinau nicht zusammen. Falls also die städtischen, für den menschlichen Gebrauch nutzbar gemachten Wasseranlagen verseucht gewesen wären, müßte es sich um einen für Menschen avirulenten Stamm gehandelt haben, da ja die gesamte Bevölkerung von Steinau aus den städtischen Leitungen ihr Wasser bezieht und dieses also auch genießt.

Die Wasserversorgung der Stadt Steinau geschieht nun durch zwei Wasserleitungen, die ihr Wasser aus einwandfrei gefaßten Quellen erhalten, mit Hochwasserbehältern, infolge der Höhenlagen der Quellen ohne Pumpstationen. Die diesbezüglichen Untersuchungen des Wassers ergaben nur unwesentliche Mängel, Paratyphus B-Bazillen wurden nicht gefunden. Auch die übrigen Anlagen sind einwandfrei hergestellt.

Nun ist aber außer diesen beiden städtischen Wasserleitungen eine weitere Wasserquelle südwestlich der Stadt vorhanden, die in keinerlei Verbindung mit ersteren steht. Es handelt sich um den sogenannten Stoppborn, der schlecht gefaßt und mangelhaft gedeckt ist und sich neben Aeckern befindet, die gedüngt werden, an denen sogar die Landarbeiter ihre Fäkalien entleeren. Diese Quelle wird etwa 700 m bis in die Nähe der Stadtgrenze fortgeleitet und geht in eine ständig laufende Wasserentnahmestelle über, deren Wasser in einen als Viehtränke dienenden Trog überfließt. Nur 2 Haushaltungen nahmen Wasser für das Vieh von dort. Zu Trink- und Gebrauchszwecken sollte es und hat es im allgemeinen nicht gedient, da ja für alle Haushaltungen die beiden Leitungen zur Verfügung standen. Ein Mitglied dieser beiden Haushaltungen hat jedoch trotzdem früher vor der Untersuchung von diesem Wasser getrunken (ohne krank zu werden) und den üblen, an sich aber infolge der schlechten Verhältnisse erklärlichen Geschmack gerügt. Es wurde nun die bakteriologische Untersuchung (anläßlich dieses Vorkommnisses auch der übrigen Quellen[2]) veranlaßt und der Brunnen, noch bevor das Untersuchungsresultat bekannt war, zugemauert, um die Benutzung dieser Quelle mit Sicherheit zu verhindern. Hier wurden nun die Paratyphus B-Bazillen gefunden.

Die beiden städtischen Wasserleitungen sind also ohne wesentliche Mängel. Der positive Bazillenbefund bezog sich lediglich auf eine, nicht für den menschlichen Gebrauch bestimmte Quelle, die, mangelhaft gedeckt und gefaßt, der Verunreinigung, vor allem auch durch menschliche Abgänge, ausgesetzt war und nur als Viehtränke dienen sollte. Der gemachte Befund ist demnach hier leicht erklärlich. Schlußfolgerungen über besondere Eigenschaften des herausgezüchteten Stammes lassen sich also unter Berücksichtigung der Herkunft nicht ziehen. In der Arbeit von Kapeller sind solche ja auch nicht zum Ausdruck gebracht. Trotzdem halte ich meine kurze Mitteilung für berechtigt, damit die örtlichen Verhältnisse richtig beurteilt und falsche Schlußfolgerungen von anderer Seite vermieden werden.

---

1) Vgl. die diesbezüglichen Referate von Uhlenhuth und Mießner auf der letzten Tagung der Deutsch. Vereinigung f. Mikrobiologie am 26. 9. 25 zu Frankfurt a. M.

2) Es bestand gerade Hochwasser. Wie nicht selten zu solchen Zeiten, zeigte auch das Leitungswasser eine leichte Trübung.

Nachdruck verboten.

Ueber eine Variationserscheinung bei einem Stamme der Paratyphus B-Gruppe, welche bei einer Nahrungsmittelvergiftung nachgewiesen wurde.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von **Kikuo Sakai.**

Wenn auch schon betreffs ihrer verschiedenen Eigenschaften viele Variationserscheinungen bei Paratyphusbazillen beobachtet worden sind, so ist es keineswegs mein Zweck, sie hier alle zu zitieren, sondern ich möchte ich mich darauf beschränken, nur das anzuführen, was mit meiner Beobachtung in direktem Zusammenhang steht.

Bei einer Gruppe der Paratyphusbazillen, welche bei einer Nahrungsmittelvergiftung in Koriyama von Konno und Hirai gefunden worden waren, wurde von Konno und Sakai eine Variationserscheinung beobachtet. Diese Bazillen wurden anfangs in den 4 repräsentierenden Seris als eine Art Mäusetyphusbazillen, nämlich die Aertryckform, festgestellt. Von diesen 4 Seren waren 2 Mäusetyphusbazillen und 2 Paratyphus B-Schottmüller. Ein Serum von 2 Paratyphus B-Schottmüller-Seris muß die typische Form und das andere die atypische Form, ein Serum von Mäusetyphusseris die typische Form und das andere die atypische Form der Mäusetyphusbazillen darstellen. Aoki nannte provisorisch die erstere Form Mäusetyphusbazillen in engerem Sinne und die letztere Form die Aertryckform. Beide Formen des Paratyphus B-Schottmüller agglutinieren einander gleich stark, bis zum Titer, jedoch in 2 anderen Seris von Mäusetyphusbazillen verschieden stark. Die typische Form, P.B. 14, agglutiniert nämlich in dem typischen Serum Mäusetyphusbazillen sehr stark, fast bis zum Titer, aber in seinem atypischen Serum ganz schwach oder gar nicht; die atypische Form, P.B. 37, reagiert in den beiden Sera auf Mäusetyphusbazillen überhaupt ganz schwach oder nicht. Die zwei Formen Mäusetyphusbazillen, welche sich gegenseitig gleich verhalten, reagierten ebenfalls in den 2 Paratyphus B-Seren verschieden. Die typische Form, Ms. 2, reagiert nämlich in dem typischen Serum von Paratyphus B-Bazillen sehr stark, fast bis zum Titer, aber in seinem atypischen Serum fast nicht; die atypische, Ms. 34, reagiert in den beiden Seren von Paratyphus B-Bazillen ganz schwach.

Die Koriyama-Bazillen sollen zu den atypischen Mäusetyphusbazillen gehören, welche Aoki Mäusetyphusbazillen der Aertryckform nannte. Sie reagierten in den beiden Mäusetyphusbazillenseren bis zum Titer, aber in den beiden Paratyphus B-Bazillenseris ganz schwach. Bei der nachfolgenden Untersuchung dieser Bakterienstämme wurde von Konno bemerkt, daß sie sich so verändert hatten, daß sie im typischen Paratyphus B-Bazillenserum ebenso stark wie typische Mäusetyphusbazillen reagierten. Bei der Zerlegung der Stämme gelang es ihm, zweierlei Kolonien herzustellen, wovon die eine in den beiden Paratyphus B-Bazillenseris ganz schwach, aber die andere in dem typischen Paratyphus B-Bazillenserum sehr stark reagierte. Durch

genauere Untersuchung konnten Konno und Sakai feststellen, daß die obigen agglutinatorischen Veränderungen darauf beruhten, daß die typische Form von der atypischen, welche direkt von Kranken als Mäusetyphusbazillen der Aertryckform herausgezüchtet war, neugebildet wurde. Infolgedessen nahmen sie an, daß diese Stämme der Aertryckform sehr dazu neigten, die typische Form abzugeben. Daraufhin hatte Sakai wieder Gelegenheit, Stämme der Paratyphusgruppe, welche als Paratyphus B-Gruppe von Kajitsuka bei einer Nahrungsmittelvergiftung in Spaskaya gefunden waren, nach unserem Schema zu untersuchen. Dabei wurden die Stämme auch teils als typische, teils aber als atypische Mäusetyphusbazillen erkannt. Bei genauerer Untersuchung wurde ferner festgestellt, daß diese Stämme immer den atypischen Typus, die Aertryckform, abgaben. Infolgedessen nahm er an, daß diese Bazillen, welche von Kajitsuka bei einer Nahrungsmittelvergiftung gefunden wurden, nicht zu den Paratyphus B-Bazillen, sondern zu einer Art Mäusetyphusbazillen, nämlich der Aertryckform, gehören, welche stark geneigt ist, die typische Form Mäusetyphusbazillen abzugeben.

Zu dieser Beobachtung möchte ich noch eine andere hinzufügen, welche noch bei anderen Stämmen von Paratyphus B-Bazillen gemacht wurde. Diese Stämme wurden nämlich von Dr. Higuchi bei einer Nahrungsmittelvergiftung nachgewiesen, welche in der Kadettenschule in Tokyo 1919 ausbrach. Damals wurde von ihm festgestellt, daß sie sich sowohl kulturell als auch agglutinatorisch genau wie Paratyphus B-Bazillen oder Mäusetyphusbazillen verhielten. Sie zeigten sich aber absorptorisch ganz differenziert von ihnen, so daß sie die Agglutinine beider Bakterienarten nicht wegnehmen konnten. Diese Stämme wurden uns von Prof. Saizawa am Bakteriologischen Institute der militärischen Medizinschule freundlicherweise geschickt, wofür wir ihm auch hier unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

Sie wurden einerseits mikroskopisch, andererseits kulturell untersucht. Es ergab sich, daß sie sich wie Paratyphus B-Bazillen verhielten. Sie wurden ferner in unseren 4 repräsentierenden Seren agglutinatorisch geprüft. Dabei wurde festgestellt, daß sich diese Stämme agglutinatorisch auch genau so verhielten, wie Higuchi angegeben hatte. Sie agglutinierten nämlich im Serum von Paratyphus B-Schottmüller und im typischen Mäusetyphusserum bis zum Titer, im Gärtner-Serum aber viel schwächer als der Titer. Da sie aber in einem anderen Serum von Mäusetyphusbazillen, welches den atypischen Mäusetyphus, nämlich die Aertryckform Ms. 34, darstellt, ganz schwach beeinflußt wurden, kann ich nicht anders annehmen, als daß sie nicht zu Mäusetyphusbazillen gehören. Jedoch möchte ich sie auch nicht als zu

Tabelle I.

Name der Immunsera	Ms. 2	Ms. 34	P.B. 14	E.G. 3	E.G. 9
Titer	20 000	10 000	10 000	10 000	5000
Name d. Bakterien					
N. 1	10 000 ±	100 —	5000	500	500 ±
N. 2	10 000 ±	100 —	5000	500	500 ±

N. 1, N. 2: von Prof. Saizawa erhaltene Kulturen.

Schottmüller-Bazillen gehörig betrachten, weil ich sie leider wegen Mangels eines Immunserums, welches die atypischen Schottmüller-Bazillen darstellt, damals nicht prüfen konnte (Tab. I). Deshalb wurden sie ferner im Paratyphus B-Serum absorptorisch untersucht, um festzustellen, ob sie sicher zu den Paratyphus B-Bazillen gehören. Es stellte sich heraus, daß sie die Agglutinine des Paratyphus B-Schottmüller nicht deutlich wegnehmen können, wie Higuchi schon bemerkte. Infolgedessen wurden sie durch Plattenverfahren in Kolonien zerlegt. Einzelne Kolonien wurden in Paratyphus Schottmüller- und beiden Mäusetyphusseris agglutiniert (Tab. II). Es ergab sich zu unserer Ueberraschung, daß zweierlei Kolonien vorhanden sind, von denen die eine sowohl im Paratyphus B-Serum als auch in einem typischen Mäusetyphusserum bis zum Titer, aber in einem anderen atypischen Mäusetyphusserum ganz schwach agglutiniert, die andere dagegen nur im Gärtner-Serum, und zwar in einem Typus desselben, zwar sehr undeutlich, doch bis zum Titer agglutinieren kann. Hier muß noch bemerkt werden, daß diese Versuche mehrmals wiederholt wurden, aber das Resultat war immer übereinstimmend. Die erstere Kolonie wurde als a-Form, die letztere als b-Form bezeichnet. Die a-Form stellt wahrscheinlich die reine originale Form, die b-Form die Variantenform dar. Da aber die Agglutination bei der b-Form-Variante undeutlich auftrat, wurden sie wieder in Kolonien zerlegt. Die einzelnen Kolonien wurden in denselben Seren wieder agglutiniert. Dabei muß bemerkt werden, daß ein atypisches Paratyphus B-Schottmüller-Serum, P.B. 37, diesmal mitgebraucht wurde (Tab. III). Es kamen dreierlei Kolonien zum Vorschein.

Tabelle II.

Name der Immunsera	Ms. 2	Ms. 34	P.B. 14	E.G. 3	E.G. 9
Titer	20 000	10,000	10 000	10 000	5000
Name d. Bakterien					
No. 1 a	10 000 ±	100 —	5000	100 —	100 —
„ 1 b	100 ±	100 —	100 —	10 000 [1])	100 —
„ 2 a	10 000 ±	100 —	5000	100 —	100 —
„ 2 b	100 ±	100 —	100 —	10 000 [1])	100 —

Tabelle III.

Name der Immunsera	Ms. 2	Ms. 34	P.B. 14	P.B. 37	E.G. 3	E.G. 9
Titer	20 000	10 000	10 000	10 000	10 000	5000
Name d. Bakterien						
b	100 ±	100 —	100 —	100 —	100 —	100 —
b_1	100 ±	100 —	100 —	100 —	10 000 [1])	100 ±
c	100 —	100 —	100 —	100 —	10 000	100 ±

Die eine davon verhielt sich so, daß sie in allen Seren gar nicht, die zweite nur in einem Typus Gärtner-Serum bis zum Titer, aber nicht

1) undeutlich agglutiniert.

sehr deutlich, die letzte dagegen darin sehr deutlich und prompt bis zum Titer agglutiniert wurde. Die 1. Variante, welche in allen Seris gar nicht reagierte, wurde wieder b-Form; die 2. Variante, welche in einem Gärtner-Serum zwar undeutlich, aber bis zum Titer agglutiniert war, wurde b_1-Form; und die dritte Variante, welche im Gärtner-Serum prompt agglutinierte, wurde c-Form genannt. Deshalb muß die originale b_1-Form mit der originalen b-Form identisch sein. Da die originale b-Form in 3 Varianten zerlegt worden war, wurde die a-Form auch in Kolonien zerlegt. Diese einzelnen Kolonien wurden in denselben 6 Seren agglutinatorisch untersucht. Auch hier wurden dreierlei Kolonien festgestellt, von denen die eine in den beiden typischen Paratyphus B-Seris, im typischen Mäusetyphusserum bis zum Titer, aber im atypischen Mäusetyphusserum ganz schwach, die 2. nur in den beiden Paratyphus B-Seren bis zum Titer und die letzte in einem typischen Paratyphus B-Serum und in einem typischen Mäusetyphusserum bis zum Titer, aber in den anderen atypischen Paratyphus- und Mäusetyphusseris entweder ganz schwach, oder gar nicht agglutiniert wurde. Hier wurde keine Kolonie bemerkt, welche in Gärtner-Seris reagieren konnte (Tab. IV). Nach den obigen Ergebnissen kann man

Tabelle IV.

Name der Immunsera	P.B. 14	P.B. 37	Ms. 2	Ms. 34	E.G. 3	E.G. 9
Titer	10 000	10 000	20 000	10 000	10 000	5000
Name d. Bakterien						
a_1	5000	5000 ±	5000 ±	100 —	100 —	100 —
a_2	5000	5000 ±	100	100 —	100 —	100 —
a_3	5000	500	5000 ±	100 —	100 —	100 —

wohl annehmen, daß die Higuchischen Stämme verschiedene Varianten abzugeben geneigt sind. Die eine von diesen Varianten stellt typische Paratyphus B-Bazillen, eine andere typische Gärtner-Bazillen und die letzte eine Zwischenform oder eine mehr zu den Gärtner-Bazillen neigende Form dar. Die 1. möchte ich a-Form, die 2. C-Form und die 3. b-Form nennen. Die a-Form stellt deshalb den Paratyphus B-Typus und die C-Form Gärtner-Bazillen dar. Ueber die b-Form kann ich jetzt noch nichts Sicheres aussagen, sie scheint aber doch mehr der Gärtner-Form zuzuneigen.

Da ich, wie oben berichtet, beobachtet hatte, daß die a- und b-Formen immer geneigt sind, Varianten abzugeben, wurden folgende Versuche angestellt, um zu erkennen, ob die oben rein dargestellten a-, b- und c-Formen immer konstant unverändert bleiben, oder von sich aus immer Varianten abgeben. Dazu wurden diese 3 rein dargestellten Formen über 60mal in 2 Monaten auf Schrägagar umgezüchtet. Nach der letzten Umzüchtung wurden die einzelnen Kulturen durch Isolierungsverfahren wieder in Kolonien zerlegt. Bei jeder Kultur wurden über 100 Kolonien ausgewählt und in denselben Seris zur Probe agglutiniert. Die Kolonien, welche dabei im Gärtner-Serum stark agglutinierten, wurden als die c-Form, die anderen, welche darin undeutlich agglutinierten, als die b-Form, noch andere, welche darin gar nicht, aber im Paratyphus B-Serum stark agglutinierten, als die a-Form angenommen.

Danach wurde festgestellt, daß von einzelnen Kulturformen andere Formen neugebildet werden, wie das Tabelle V zeigt. Falls die 3 Kultur-

Tabelle V.

Kulturarten	No. 1			No. 2		
	a	b	c	a	b	c
Zahl der Kolonien						
a-Form	75	26	5	61	11	9
b-Form	60	59	32	55	73	33
c-Form	13	37	69	28	53	70
	148	122	106	144	137	112

formen. nicht umgezüchtet, über 3 Monate in Kälte gehalten wurden, war die Variantenerscheinung bei jeder Kultur schwer nachzuweisen. Danach scheint die Umzüchtung eine große Rolle dabei zu spielen.

Nun müssen diese verschiedenen Varianten noch eingehend studiert werden: Zuerst wollte ich erforschen, wie diese 3 Varianten unter sich differenziert sind. Dazu wurden Kaninchen mit diesen 3 Varianten mehrmals vorbehandelt. Vor jeder Einspritzung wurde eine Blutprobe entnommen und darin wurden die 3 Varianten agglutiniert. Dabei wurde das agglutinatorische Verhalten auf die Weise betrachtet, daß der Titer der heterologen Bakterien mit dem Titer der homologen Bakterien dividiert wurde, wie Aoki zu tun pflegt. Da diese Varianten geneigt sind, immer andere Varianten abzugeben, wie oben berichtet wurde, wurde die Immunisierung unter solchen Vorsichtsmaßregeln ausgeführt, daß diese 3 Variantenkulturen vor ihrem Gebrauch immer neu in Kolonien zerlegt und die dabei isolierten einzelnen Kolonien in den obigen repräsentierenden Seris agglutinatorissch geprüft wurden. Die dabei einzeln als reine Variante erscheinenden Kolonien wurden bald auf Schrägagar gezüchtet. Aus diesen 20stünd. Kulturen wurden Aufschwemmungen hergestellt, die einerseits agglutiniert, andererseits zur Immunisierung gebraucht wurden. Falls sie dabei nicht regelrecht agglutiniert waren, wurden sie weggeworfen und wieder neue Kulturen aus anderen Kolonien angelegt und wie oben behandelt. Wie aus Tabelle VI zu ersehen ist, war das agglutinatorische Verhalten unter den 3 Varianten während der ganzen Immunisierung immer viel kleiner als 1/1, sodaß man annehmen kann, daß sie unter sich ganz differenziert sind. Doch muß bemerkt werden, daß die Variante b eine gewisse Verwandtschaft mit der Variante c zu haben scheint, weil das agglutinatorische Verhalten bei der Immunisierung von Kaninchen mit der b-Variante der c-Form gegenüber während der ganzen Immunisierung beinahe so groß wie 1/1 war. Diese Erscheinung scheint mit der obigen Beobachtung ganz übereinzustimmen, daß die b-Variante manchmal im Gärtner-Serum, wenn auch undeutlich, erscheint, doch aber bis zum Titer agglutinieren kann. Dann wurde weiter geprüft, wie diese 3 Varianten anderen Bakterien gegenüber sich verhalten, mit deren Serum sie agglutinatorisch geprüft waren. Besonders muß hier berücksichtigt werden, in was für einer Beziehung die a-Variante den Paratyphus B-Bazillen Schottmüller gegenübersteht. Sie wurden zuerst durch Immunisierungsverfahren Paratyphus B-Bazillen gegenüber untersucht. Da die a-Form in 3 Untervarianten zerlegt werden

Tabelle VI.

Zahl der Vorbehandlungen	1	2	3	4	5	6
a : a	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
b : a	1/5	1/100	1/100	1/100	1/100	1/200
c : a	1/5	1/200	1/100	1/100	1/100	1/400
a : b	1/10	1/10	1/8	1/5	1/10	1/10
b : b	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
c : b	1/2,5	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
a : c	1/4	1/10	1/400	1/1000	1/1000	1/500
b : c	1/4	1/100	1/100	1/100	1/50	1/50
c : c	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1

Tabelle VII.

Zahl der Vorbehandlungen	1	2	3	4	5
P.B. 14 : a_1	1/2	1/1	1/1	1/2	1/1,5
P.B. 37 : a_1	1/2,5	1/10	1/10	1/10	1/10
Ms. 2 : a_1	1/1	1/1	1/2	1/4	1/2
Ms. 34 : a_1	1/2,5	1/5	1/20	1/100	1/100
P.B. 14 : a_2	1/2	1/2	1/2	1/1,5	1/1,5
P.B. 37 : a_2	1/2	1/20	1/10	1/10	1/10
Ms. 2 : a_2	1/2	1/20	1/10	1/20	1/10
Ms. 34 : a_2	1/2	1/20	1/20	1/40	1/40
P.B. 14 : a_3	1/2	1/1	1/1	1/1	1/1
P.B. 37 : a_3	1/4	1/10	1/5	1/10	1/10
Ms. 2 : a_3	1/1	1/1	1/1	1/2,5	1/2
Ms. 34 : a_3	1/4	1/10	1/50	1/10	1/20

kann, wurden Kaninchen mit diesen 3 Untervarianten vorbehandelt. Während der Untersuchung wurden sie wie oben Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillen gegenüber geprüft. Wie Tabelle VII zeigt, verhielten sich die 3 a-Untervarianten den typischen Paratyphus B-Bazillen gegenüber so, als ob sie mit ihnen identisch seien, weil sich der Index während der Immunisierung immer zwar nicht ganz, aber beinahe wie 1/1 zeigte. Doch konnte die a-Form nicht als Paratyphus B-Bazillen betrachtet werden, weil sie sich den atypischen Paratyphus B-Bazillen gegenüber ganz anders verhielt, als die Paratyphus B-Bazillen, so daß der Index während der ganzen Immunisierung immer kleiner als 1/1 war. Mäusetyphusbazillen gegenüber verhielt sie sich auch genau so wie bei Paratyphus B-Bazillen, so daß der Index ihnen gegenüber viel kleiner als 1/1 war. Deshalb müssen sie als von Mäusetyphusbazillen ganz differenziert betrachtet werden (Tab. VII). Ferner wurden sie den Bakterien, nämlich Paratyphus B-Bazillen und Mäusetyphusbazillen, gegenüber absorptorisch untersucht. Wie aus Tabelle VIII zu ersehen, verhielten sich die 3 Varianten ihnen gegenüber ganz differenziert, so daß sie von den Seren der Paratyphus B-Bazillen nur auf sich gerichtete Agglutinine wegnehmen konnten (Tab. VIII I, II, III). Hier muß be-

Tabelle VIII (I)

Name der Immunsera	P.B. 14		a_1	
Absorbiert mit	Vor d. Abs.	a_1	Vor d. Abs.	P.B.14
Name d. Bakt.				
a_1	5000	100−	20 000	5000±
a_2	5000	100−	20 000	5000±
a_3	5000	100−	20 000±	2000
P.B. 14	10 000	500	10 000	100
P.B. 37	10 000	2000	2000	2000
Ms. 2	10 000±	100−	10 000±	100−
Ms. 34	100−	.	200	100−

Tabelle VIII (II)

Name der Immunsera	P.B. 14		a_2	
Absorbiert mit	Vor d. Abs.	a_2	Vor d. Abs.	P.B.14
Name d. Bakt.				
a_1	5000	5000±	20 000	5000
a_2	5000	100−	20 000	5000
a_3	5000	5000±	20 000	5000
P.B. 14	10 000	5000±	10 000	100±
P.B. 37	10 000	5000±	2000	2000
Ms. 2	10 000±	2000	2000	100
Ms. 34	100	.	100	.

Tabelle VIII (III)

Name der Immunsera	P.B. 14		a_3	
Absorbiert mit	Vor der Abs.	a_3	Vor der Abs.	P.B. 14
Name d. Bakt.				
a_1	5000	200 ±	10 000	100 —
a_2	5000	200 ±	5000	100 —
a_3	5000	100 —	10 000	100 —
P.B. 14	10 000	500	10 000	100 —
P.B. 37	10 000	1000	1000	100 —
Ms. 2	10 000 ±	100 —	5000	100 —
Ms. 34	100 —		200	100 —

merkt werden, daß sich darunter eine Untervariante Paratyphus B-Bazillen gegenüber sehr ähnlich verhielt. Doch konnte diese Untervariante vom Paratyphus B-Serum Agglutinine nicht ganz wegnehmen, so daß man die beiden doch nicht als identisch annehmen kann (Tab. VIII III). Durch diese genauere Untersuchung wurde sicher nachgewiesen, daß die a-Variante, wenn sie auch ganz rein dargestellt ist, doch mit den Paratyphus B-Bazillen Schottmüller nicht identisch ist. Mit Mäusetyphusbazillen hat sie gar nichts zu tun. Bei der c-Variante ergab sich folgendes: Wie bei der a-Variante, wurden Kaninchen mit der c-Variante mehrmals immunisiert. Während der Immunisierung wurde die Blutprobe gerade so entnommen und genau so untersucht, wie bei der a-Variante. Dabei ergab sich, daß der Index Gärtner-Bazillen gegenüber während der ganzen Immunisierung immer als 1/1 auftrat, so daß sie als mit ihnen identisch betrachtet werden muß (Tab IX, S. 16). Nun wurden Kaninchen umgekehrt mit 2 Gärtner-Typen mehrmals immunisiert. Während der Immunisierung der Kaninchen wurden die a-, b- und c-Varianten genau darin untersucht, ganz wie früher. Dabei ergab sich, daß ein Typus von Gärtner-Bazillen, E.G. 3, mit der c-Form ganz identisch, 2 anderen Varianten gegenüber sich ganz differenziert verhielt. Der andere Typus Gärtner-Bazillen, E.G. 9, verhielt sich den 3 anderen Varianten gegenüber ganz differenziert (Tab. X). Durch diese 2 Versuche scheint genau nachgewiesen zu sein, daß die c-Variante zu den Gärtner-Bazillen gehört, und zwar

Tabelle IX.

Zahl der Vorbehandlungen	1	2	3	4	5	6
P.B. 14 : c	1/4	1/10	1/200	1/500	1/250	1/250
P.B. 37 : c	1/10	1/20	1/200	1/500	1/500	1/500
Ms. 2 : c	1/4	1/10	1/400	1/100	1/40	1/100
Ms. 34 : c	1/4	1/10	1/400	1/100	1/50	1/100
E.G. 3 : c	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
E.G. 9 : c	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1

Tabelle X.

Zahl der Vorbehandlungen	1	2	3	4	5	6
a : E.G. 3	1/40	1/200	1/400	1/1000	1/2000	1/2000
b : E.G. 3	1/20	1/200	1/100	1/250	1/1000	1/200
b_1 : E.G. 3	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
c : E.G. 3	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
a : E.G. 9	1/40	1/100	1/100	1/200	1/400	1/400
b : E.G. 9	1/40	1/100	1/100	1/100	1/100	1/200
b_1 : E.G. 9	1/20	1/5	1/2	1/2	1/1	1/1
c : E.G. 9	1/10	1/50	1/5	1/2	1/1	1/1

mit einem Typus von ihnen ganz identisch ist. Um dieses Verhalten noch genauer zu untersuchen, wurde das Absorptionsverfahren ausgeführt. Dazu wurden Gärtner-Sera mit der c-Variante absorbiert. Es ergab sich, daß die c-Variante Agglutinine in einem Gärtner-Serum so total wegnehmen konnte wie die eigenen Agglutinine. Aber sie konnte die Hauptagglutinine in einem anderen Gärtner-Serum, welches einen anderen Typus darstellt, nicht wegnehmen (Tab. XI I). Dann wurde das c-Varianten-Serum mit 2 Gärtner-Bazillen absorbiert. Dabei stellte sich heraus, daß die Agglutinine der c-Variante von einem Typus der Gärtner-Bazillen, E.G. 3, total, aber von einem anderen Typus der Gärtner, E.G. 9, fast gar nicht weggenommen wurden (Tab. XI II). Daraus kann man wohl schließen, daß die obige Annahme immer richtig ist.

Tabelle XI (I).

Name der Immunsera	E.G. 3		E.G. 9	
Absorbiert mit	Vor d. Abs.	C	Vor d. Abs.	C
Name d. Bakt.				
C	10 000	100—	2000	100—
E.G. 3	10 000	100—	5000±	100—
E.G. 9	5 000	100—	5000	1000

Tabelle XI (II).

Name der Immunsera	C			
Absorbiert mit	Vor d. Abs.	C	E.G. 3	E.G. 9
Name d. Bakt.				
C	20 000	100—	100—	10 090
E.G. 3	20 000	100—	100—	10 000
E.G. 9	2 000	100—	100—	100—

Was die b-Variante anbelangt, welche oben als eine Zwischenform angenommen war, so bin ich hier nicht in der Lage, etwas über sie zu sagen, weil sie noch nicht eingehend untersucht worden ist. Soweit ich beobachtet habe, scheint es aber wahrscheinlich zu sein, daß sie eigentlich eine etwas abweichende Gärtner-Bazillenform darstellt,

welche unter anderen am leichtesten geneigt ist, zur c-Variante sich umzuwandeln, weil ich manchmal sah, daß während der Immunisierung von Kaninchen mit Gärtner-Bazillen der Index während der ganzen Immunisierung immer so groß wie 1/1 war (Tab. X).

Nach den obigen analytischen Beobachtungen kann man wohl annehmen, daß die Bakterien, die Higuchi bei einer Nahrungsmittelvergiftung in der Kadettenschule in Tokyo nachgewiesen hatte, weder zum Paratyphus B Schottmüller, noch zu den Mäusetyphusbazillen im weiteren Sinne, wie Higuchi meinte, sondern zu einer Variante der Gärtner-Bazillen zu gehören scheinen, welche durch Paratyphus B-ähnliche Varianten verhüllt sind. Diese Annahme scheint mir desto wahrscheinlicher zu sein, als Kajitsuka 1 Jahr darauf eine ähnliche Erscheinung beobachtet hat. Bei der Untersuchung einer Nahrungsmittelvergiftung gebrauchte er nämlich diese Stämme als Kontrolle Paratyphus B ähnlicher Bazillen, welche ebenfalls bei einer Nahrungsmittelvergiftung gefunden waren. Dabei bemerkte er, daß diese Bazillen im Paratyphus B-Serum nicht mehr agglutinieren konnten. Sie wurden dabei im Gärtner-Serum nicht geprüft, doch scheint es mir höchst wahrscheinlich, daß diese Stämme der Gärtner-Bazillen gänzlich umgewandelt waren, weil sie auch bei mir fast zur selben Zeit wie bei ihm in typischem Paratyphusserum nicht mehr, aber in einem Typus von Gärtner-Serum sehr stark und prompt, bis zum Titer, reagierten. Wenn auch diese Stämme ferner damals bei Higuchi im Gärtner-Serum nicht so stark wie der Titer agglutinierten, so kann man doch daraus nicht ohne weiteres schließen, daß sie nicht zu den Gärtner-Bazillen gehören, weil doch einerseits bei ihm einer unter allen Stämmen darin sehr stark, bis zum $^1/_{10}$ Titer, agglutinierte, andererseits sie bei mir in dem einen ganz schwach, aber in einem anderen Gärtner-Serum prompt bis zum Titer reagieren konnten, wie oben genau berichtet ist. Hier sei bemerkt, daß es, wie schon bemerkt, unter den Gärtner-Bazillen viele Typen, wie in der Paratyphus B-Gruppe, geben muß. Deshalb ist es wahrscheinlich, daß auch die b-Form, welche in allen Seren, und zwar auch in unseren 2 Gärtner-Seris, nicht reagierte, noch einen anderen Typus von Gärtner-Bazillen darstellt. Auf diese Weise scheinen unsere Stämme immer andere Varianten von Gärtner-Bazillen abzugeben. Diese Frage werde ich später noch genau studieren.

Zusammenfassung.

1) Bakterienstämme, welche bei Ausbruch einer Nahrungsmittelvergiftung von Higuchi gefunden waren, gehören, obgleich sie auch im Paratyphus B-Serum sehr stark agglutinierten, doch nicht zu Paratyphus B Schottmüller, wie er schon betonte. — 2) Sie stehen auch in keinem Zusammenhang mit den Bakterien, welche zur Mäusetyphusbazillen-Aertryckform gehören. — 3) Sie neigen stark zur Variation, so daß verschiedene Typen von Gärtner-Bazillen dabei zum Vorschein kommen. — Falls sie nach 1 Jahre nochmals genau untersucht wurden, konnten sie nicht mehr in Paratyphus B-Serum, wohl aber in Gärtner-Seris bis zum Titer reagieren. — 5) Infolgedessen meine ich, daß sie eigentlich nicht zu den Paratyphus B-Bazillen, sondern zu den Gärt-

ner-Bazillen gehören, welche keine typische Form, sondern eine gewissermaßen mit Paratyphus B-Bazillen ähnlichen Varianten maskierte Form darstellen.

Literatur.

1) Aoki, Tohoku Journ. of Exp. Med. Vol. 2. 1921. p. 131. — 2) Aoki u. Konno, Ibid. Vol. 2. 1921. p. 376. — 3) Sakai, Ueber eine neue Unterart von Paratyphus B-Bazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1925.) — 4) Hirai u. Konno, Tohoku Igaku Zasshi. Vol. 5. 1921. p. 1. [Japanisch.] — 5) Konno u. Sakai, Tohoku Journ. of exp. Med. Vol. 3. 1922. p. 333. — 6) Kajitsuka, Gunidan Zasshi. 1921. p. 345. [Japanisch.] — 7) Sakai, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 389. — 8) Higuchi, Gunidan Zasshi. 1920. p. 487. [Japanisch.]

Eine Nahrungsmittelvergiftung durch Sauerkraut.

Von Dr. **Heinrich Ruge**, Kiel, Marinestabsarzt.

Am 27. 4. 1922 erkrankten auf einem Linienschiff, wahrscheinlich nach dem Genuß von Halberstädter Würstchen und Sauerkraut, etwa 80 Mann der Besatzung. Das Sauerkraut mit Würstchen wurde am Tage vorher als Abendessen an die Besatzung verausgabt. Die Würstchen waren in Blechdosen und machten einen durchaus einwandfreien Eindruck, ebenso das Sauerkraut, das in einem Fasse zu etwa 100 kg verpackt war. Es wurde das gesamte Kraut, das etwa 14 Tage an Oberdeck an einer vor Nässe und Hitze geschützten Stelle gestanden hatte, verwendet und in der üblichen Weise zubereitet.

Die Erkrankungsfälle, die ungefähr 8—12 Std. nach dem Verzehren der Speisen eintraten, ließen sich in zwei Gruppen einteilen: 1) die gastroenteritische, 2) die febrile.

An beiden Formen erkrankten schätzungsweise je 30—40 Mann. Genaue Zahlen ließen sich nicht feststellen, da sich einige Leute überhaupt nicht krank gemeldet hatten, ins Schiffslazarett aufgenommen wurden 5 Mann, behandelt im ganzen 21. Auf Grund eingehender Rückfragen wurden bei einer Besatzung von 380 Mann etwa 80 Mann = 21,06 Proz. ermittelt, welche bei sich mehr oder weniger ausgesprochene Störungen ihres Allgemeinbefindens nach Einnahme dieser Mahlzeit bemerkt hatten.

Die Erkrankungen verliefen ziemlich leicht. Nach 2—3 Tagen waren im Durchschnitt sämtliche Erscheinungen: Fieber, mit Schleim vermischte, dünne Stühle auf der einen, und allgemeine Mattigkeit, Fieber, Gliederschmerzen auf der anderen Seite wieder abgeklungen. Todesfälle kamen nicht vor. Die Behandlung war die übliche: Bettruhe, Rizinus, Diät, Leibwärmflasche.

Die Menge der genossenen Nahrungsmittel hatte keinen Einfluß auf den klinischen Verlauf der Erkrankungen. So erkrankten Leute leicht, die große Mengen gegessen hatten, während andere nach dem Genuß wesentlich geringerer Portionen im Verhältnis erheblich schwerere Erscheinungen darboten.

Allem Anschein nach ist die Vergiftung auf das Sauerkraut und nicht auf die Würstchen zurückzuführen, und zwar aus folgenden Gründen: 1) Zwei oder drei Leute haben von den Würstchen nichts genossen, sondern nur Sauerkraut, und sind gleichfalls zunächst ziemlich heftig erkrankt. 2) Von den Offizieren und Deckoffizieren, welche diese Mahlzeit nicht erhalten hatten, erkrankte niemand. 3) Nur die drei Offiziere, welche die Mannschaftsessensprobe erhalten hatten, zeigten krankhafte Erscheinungen nach dem Genuß der Essensprobe. Darunter befand ich mich selbst. Der eine klagte über etwas Durchfall, der zweite hatte als Ursache seines gestörten Allgemeinbefindens (Fieber, Kopfschmerzen, allgemeine Mattigkeit) eine Grippe angenommen, während ich selbst meine Erkrankung zunächst für einen Rückfall meiner alten Ruhr von 1917 hielt. Dabei war jedoch zweierlei bemerkenswert. Ich hatte Fieber (38,8), was ich bei meinen bisherigen Ruhrrückfällen nie beobachtet hatte, und ich hatte von der Essensprobe durch Zufall nur das Sauerkraut gekostet.

Die bakteriologisch-chemische Untersuchung des Sauerkrautes und der Würstchen fiel vollständig negativ aus. Das gleiche Ergebnis hatten die Untersuchungen der auf pathogene Keime eingesandten 21 Blut- und fünf Stuhlproben. Dagegen zeigten die Widals zum Teil für Typhus, Paratyphus A und B und Gärtner eine Agglutination bis zu 200, während andere Widals negativ geblieben waren.

Die Widals — es waren Widals aus beiden Gruppen, der febrilen und der gastroenteritischen — verteilen sich auf die einzelnen Typhusgruppen folgendermaßen:

Vollständig negativ: 16, positiv: 5. Positiv bis zu 200 für Typhus 3 + (1), Paratyphus A und B (1), Gärtner 1 + (1). Die vielen negativen Widals sind durch den milden Verlauf der Erkrankungen bedingt.

(1) ist ein Mann, bei dem alle drei Widals bis zu 200 + waren. Bei diesem ergab sich nachträglich, daß er 1917 angeblich einmal gegen Typhus geimpft war. Dagegen fiel mein Widal vollständig negativ aus, während ich 1915, 16 und 17 je zweimal gegen Typhus geimpft war. Beide hatten nie einen Typhus oder dergleichen durchgemacht.

Bei allen anderen 19 Leuten hatte jedoch früher nie ein Typhus oder eine typhusartige Erkrankung vorgelegen, ebensowenig waren sie gegen Typhus geimpft worden. Auch an der Wurstvergiftung durch Gärtner-Bazillen im Juni 1921 (2) war keiner der Erkrankten beteiligt gewesen. Eine weitere Blutuntersuchung nach 10 Tagen fiel bei allen serologisch und bakteriologisch vollständig negativ aus.

Ueber die Art der Erreger lassen sich nur Vermutungen anstellen. Ich nehme an, daß eine Art Fleischvergifter, und zwar ein Bazillus der Gärtner-Gruppe, hier im Spiele gewesen ist. Als Stütze hierfür möchte ich den verschiedenen Ausfall der Widals anführen. Es ist allgemein bekannt, daß Typhus- und Gärtner-Bazillen und ihre Immunsera sich gegenseitig stark beeinflussen. Auch bei Paratyphus B findet eine wechselseitige Beeinflussung mit Gärtner-Bazillen statt. So ist es in dem vorliegenden Fall als durchaus möglich anzusehen, daß ein Teil der eingesandten Sera auf die dortigen Typhus- und Paratyphus B-Stämme wesentlich besser angesprochen hat als auf die Gärtner-Stämme. Solche Beobachtungen sind ja schon häufig gemacht worden (2, 3, 4, 5). Immerhin ist es auffällig, daß ein Teil der Sera wohl auf Typhus, aber nicht auf Gärtner-Bazillen reagiert hat. Aber auch

ein solches Verhalten kommt gelegentlich vor, wie Sobernheim und Seligmann (3) nachgewiesen haben.

Daß als Ursache einer Nahrungsmittelvergiftung Sauerkraut in Betracht kommen kann, ist — soweit ich die Literatur übersehe — bisher nur einmal beschrieben worden. Marpmann, der innerhalb von drei Jahren 37 Sauerkrautproben auf Genußfähigkeit untersucht hat, fand in drei Fällen anscheinend leicht pathogene Keime. Sie röteten Lackmusmolke und bildeten etwas Gas. Eine nähere Beschreibung des Bazillus fehlt. Von einem dieser drei letzten Sauerkraute war auch eine kolikartige Erkrankung ausgegangen. Wieviel Leute von ihr betroffen worden sind sowie die näheren Umstände dieser Vergiftung werden nicht geschildert. In den Fällen von Marpmann war jedoch das Sauerkraut nicht mehr ganz einwandfrei gewesen, sondern hatte schon zu gären begonnen.

Keime der Typhus-Coli-Gruppe können sich nach den Untersuchungen von Weichell trotz der Säure und des Salzgehaltes in Sauerkraut halten. Der Salz- und Säuregehalt des Sauerkrautes ist noch nicht hoch genug, um diese Keime zum Absterben zu bringen. Sie können eine gewisse Zeit im Sauerkraut leben, ohne es zu zersetzen, so daß es — genau wie infizierte Wurst u. dgl. — äußerlich noch einen vollständig einwandfreien Eindruck macht. Es hat sich nicht ermitteln lassen, auf welche Weise die Keime in das Kraut hineingekommen sind. Ebenso fehlen auch irgendwelche Verdachtsmomente. Die Firma, von der das Kraut bezogen war, hatte bisher stets gute Ware geliefert und das Kraut war auch immer mit der nötigen Sorgfalt aufbewahrt worden. Vielleicht kommen Ratten oder Mäuse als Ueberträger des Bazillus auf das Kraut in Betracht.

Literatur.

1) Marpmann, Untersuchungen über Sauerkraut. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. 1897. S. 279.) — 2) Ruge, Eine Wurstvergiftung durch Bacillus enteritidis Gärtner. (Ibid. Bd. 90. 1923. S. 143.) — 3) Sobernheim und Seligmann, Untersuchungen über Enteritisbakterien. (Ibid. Bd. 47. S. 166. Anhang. 1910. Referate. 4. Mikrobiologentag.) — 4) Dieselben, Ueber Enteritisbakterien. (Dtsch. med. Woch. Jahrg. 36. 1910. Nr. 8.) — 5) Dieselben, dasselbe. (Hyg. Rundsch. 1912.) — 6) Weichell, Ueber Einwirkung von NaCl auf Fleischvergifter. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 34. 1910.) — 7) Zwick u. Weichell, Vorkommen von Fleischvergiftern in Pökelwaren. (Daselbst. Bd. 33. 1910.)

Untersuchungen über das Vorkommen von Diphtheriebazillen in Vulva und Vagina von Gebärenden und Wöchnerinnen.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Von Dr. **S. Tada.**

In neuerer Zeit wurde die Frage viel erörtert, ob bei den in Gebäranstalten u. dgl. zu beobachtenden Diphtherieepidemien in bezug

auf den Infektionsweg besondere, von dem Ansteckungsmodus der übrigen Bevölkerung abweichende Verhältnisse in Betracht kommen, und manche Autoren haben den in den Genitalien der Gebärenden und Wöchnerinnen anzutreffenden Diphtheriebazillen eine wesentliche epidemiologische Rolle zugeschrieben. Tsukahara[1]) hat den ganzen Fragenkomplex unter Berücksichtigung der Literatur dargelegt und kommt auf Grund umfangreicher, am Material der hiesigen Universitätsfrauenklinik ausgeführter Untersuchungen u. a. zu dem Schluß, daß Diphtherieerkrankung und Diphtheriebazillenträgerschaft von Neugeborenen offenbar auf Infektion durch Kranke oder Bazillenträger nach der Geburt beruhe. Echte Diphtheriebazillen hatte er auf der Schleimhaut der mütterlichen Vulva und Vagina von 60 Frauen bei wiederholter Untersuchung kein einziges Mal nachweisen können.

Tsukahara hatte seine Untersuchungen zu einer Zeit ausgeführt, als die Frauenklinik diphtheriefrei war. Als nun später in derselben Anstalt in kurzer Zeit mehrere Erkrankungen an Nasendiphtherie bei Neugeborenen vorkamen, mußte es besonderes Interesse bieten, die Untersuchungen zu wiederholen und durch den Vergleich von Tsukaharas und meinen, an den Frauen derselben Klinik zu verschiedenen Zeiten erhobenen Befunden die epidemiologische Bedeutung der Diphtheriebazillen an den Genitalien der jungen Mütter klarzustellen. Auf Anregung des Herrn Prof. Sobernheim habe ich diese Untersuchungen ausgeführt; Herrn Prof. Guggisberg bin ich für sein freundliches Interesse und die bereitwillige Ueberlassung des Untersuchungsmaterials zu Dank verpflichtet.

In der Zeit vom 22. Juni bis 11. Dez. gelangten 73 Abstriche aus den Geschlechtsorganen von Frauen aus der Universitätsfrauenklinik (Kant. Frauenspital) in Bern zur Untersuchung, und zwar 31 Abstriche aus der Vulva, 23 aus der Vagina und 19 ohne nähere Angabe; zum Teil stammte das Material aus Vulva und Vagina derselben Person. Das Untersuchungsmaterial betraf in der Mehrzahl Wöchnerinnen, außerdem einige Kreißende, gesunde Schwangere und Hebammen. Die mit sterilen Wattesonden entnommenen Proben wurden regelmäßig mikroskopisch mit Neißer-Färbung untersucht und auf Loeffler-Serum verimpft. Von den Kulturen wurden nach 24 und 48 Std. Schmierpräparate (Neißer-Färbung) angefertigt und mikroskopisch durchmustert, etwaige verdächtige Bakterien in Reinkultur herausgezüchtet und weiter geprüft.

Im Originalpräparat konnten 5mal diphtherieähnliche Stäbchen mit Polfärbung gefunden werden, und zwar 2mal in der Vulva und 3mal in der Vagina von Wöchnerinnen. In vier von diesen Fällen gelang die Isolierung der mikroskopisch diphtherieähnlichen Bakterien, ferner in einem 5. Falle (Vulva einer Wöchnerin), in dem die direkte mikroskopische Untersuchung des Sekretes nichts Verdächtiges gezeigt hatte. Insgesamt wurden also bei 6 Frauen Bakterien nachgewiesen, die mikroskopisch diphtherieähnlich erschienen. Die nähere kulturelle Untersuchung der von 5 Frauen gewonnenen Reinkulturen erfolgte in der üblichen Weise durch Prüfung der Anaërobiose (Stichkultur in Traubenzuckeragar) und der Wuchsform und Säurebildung in Bouillon. Dabei ergab sich, daß nur einer der Stämme den ganzen Stichkanal entlang bis in die Tiefe wuchs, also fakultativ anaërob war, wie

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922.

Diphtheriebazillen, die übrigen entwickelten sich nur am oberen Teil des Stichkanals. Die Bouillon wurde von allen Stämmen, im Gegensatz zu Diphtheriebazillen, diffus getrübt; keiner der Stämme bildete in Bouillon in 24 Std. annähernd so stark Säure, wie zwei zur Kontrolle herangezogene sichere Diphtheriestämme. Durch diese biologischen Abweichungen war erwiesen, daß es sich bei keinem der isolierten diphtherieähnlichen Stämme um echte Diphtheriebazillen handeln konnte, so daß von der Ausführung des Tierversuchs Abstand genommen wurde. Hätte ich mich mit der mikroskopischen Untersuchung des Schmierpräparates begnügt, wie es bei Material von der Rachenschleimhaut zulässig und üblich ist, so hätte ich in diesen Fällen unter Umständen fälschlich die Diagnose Diphtheriebazillen stellen können.

So wie Tsukahara in diphtheriefreier Zeit, habe auch ich, trotz des Vorkommens einiger Diphtherieerkrankungen der Neugeborenen, in Vulva und Vagina der Frauen keine Diphtheriebazillen nachzuweisen vermocht. Meine Befunde bestätigen also durchaus die von Tsukahara dargelegte Ansicht, daß auch in Gebäranstalten die Diphtherieinfektion der Kinder während der Geburt von den Schleimhäuten der mütterlichen Geburtswege aus wohl zu den seltenen Ausnahmefällen gehört und daher epidemiologisch keine Rolle spielt.

Meningitis durch Bacterium enteritidis (Gärtner).

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Köln (Professor Dr. Reiner Müller).]

Von Privatdozent Dr. **Karl L. Pesch.**

Daß Mikroben der Typhus- und Paratyphusgruppe als Eitererreger Abszesse oder auch Meningitiden verursachen, ist bekannt; meines Wissens aber nicht, daß eine Hirnhautentzündung durch Bacterium enteritidis (Gärtner) bedingt sein kann.

Für die Ueberlassung der Krankengeschichte dieses Falles bin ich der Kölner Universitäts-Kinderklinik (Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Siegert) für die Mitteilung des Obduktionsbefundes dem Pathologischen Institut (Prof. Dr. A. Dietrich) zu Dank verpflichtet.

Friedr. O., 0,3 Monate alt, wird wegen Bilanzstörung und Meningitis am 10. 7. 25 der Kinderklinik überwiesen. Familienanamnese ohne Besonderheiten. In den ersten Wochen seines Lebens zeigte das Kind geringgradige Ernährungsstörungen, die mit Erbrechen einhergingen. Diese Beschwerden gingen auf entsprechende Diät schnell zurück. Das Kind hatte niemals Durchfälle. Am 9. 7. erkrankte es plötzlich mit Schreien und Krämpfen, zuerst im rechten Arm, dann im ganzen Körper; Augen verdreht, starrer Blick, Schaum vor dem Munde. Kein Erbrechen, kein Husten, kein Ausschlag. Stuhl regelmäßig und normal. Fieber bis 39,0°.

10. 7. abends: Aufnahme in die Klinik.

11. 7.: Status: Schlechter Ernährungszustand; fast kein Fettpolster. Bei der Aufnahme Krämpfe, zuerst im rechten Arm und Bein, dann Zuckungen im ganzen Körper. Es besteht sehr geringe Nackensteifigkeit. Augen, Ohren, Nase, Tonsillen, Rachen, Thorax, Lungen und Herz ohne Befund. Leib etwas aufgetrieben, eindrückbar. Leber und Milz nicht nachweisbar vergrößert. Patellarreflexe lebhaft gesteigert. Kernig und Brudzinski negativ. Augen reagieren auf Lichteinfall.

Lumbalpunktion: Große Fontanelle nicht vorgewölbt, bei leichter Palpation etwas gespannt. Anfangsdruck 250 mm. Nach Ablassen von 15 ccm leicht getrübter Flüssigkeit beträgt der Enddruck 180 mm. In 1 ccm 1400 Zellen. Kochprobe sowie Pandy-Reaktion starke Trübung. Fieber 38,5° rektal.

13. 7.: Zweite Lumbalpunktion: Es fließt sehr langsam stark getrübter gelblicher Liquor ab. Strabismus convergens. Kernig und Brudzinski positiv. Wiederholt Krämpfe. Fieber 38,8°.

14. 7.: 70 Proz. Hämoglobin, 5750000 rote, 15300 weiße Blutkörperchen. Puls regelmäßig, Fieber 38,8°.

Dritte Lumbalpunktion: Liquor stark trübe, fast eitrig. Abdomen nicht meteoristisch, Milz nicht tastbar; keine Durchfälle, Bewußtsein getrübt.

16. 7.: Täglich 6—7mal Krämpfe. Vierte Lumbalpunktion mit dem gleichen Ergebnis. Fieber 38,3°.

18. 7.: Nach vorübergehender Besserung des Zustandes abends wieder Zunahme der Krämpfe.

19. 7.: Rasche Verschlimmerung. Tod.

Sektionsbefund: Bauchfell und Darmserosa glatt und spiegelnd. Milz nicht vergrößert, glatt, dunkelrot. In Dünn- und Dickdarm makro- und mikroskopisch keine nachweisbaren Veränderungen. Mesenterialdrüsen etwas vergrößert. Appendix frei. Magen, Duodenum, Nieren und Leber ohne Befund. Im rechten Mittelohr Eiter. Fontanelle gespannt. Hemisphären und Basis mit gelblich-rahmigem Eiter reichlich bedeckt. Ventrikel erweitert, Ependym dunkelrot-trübe. Plexus lateralis von Eiter umhüllt. Keine Blutung, keine Erweichung. Im Duralsack des Rückenmarkes kein freier Eiter. Die Pia ist jedoch trübe, verdickt und von reichlicher Gefäßfüllung.

Bakteriologischer und serologischer Befund.

In sämtlichen, dem Hygienischen Institut von der Kinderklinik und dem Pathologischen Institut eingesandten Proben wurde ein Bakterium mit folgenden morphologischen, kulturellen und serologischen Eigenschaften gezüchtet:

Gramnegatives, gut bewegliches Stäbchen von der Form der Typhusbakterien, auf allen gebräuchlichen Nährböden gut wachsend, auf Endo-Agar farblos, auf Malachitgrünagar üppig wachsend. Nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt und darauf folgendem 48stünd. Aufbewahren der Platten bei 20° gute Schleimwallbildung. Neutralrot-Traubenzuckeragar in hoher Schicht wird gesprengt und verfärbt. Keine Indolbildung. In Lackmusmolke zuerst Rötung, dann Bläuung. Raffinose-Knopfreaktion nach Reiner Müller negativ.

Serologisches Verhalten: Sämtliche untersuchten Stämme wurden

1) durch Typhusserum (Titer 1:10000) in einer Verdünnung 1:1600—3200,

2) durch Paratyphus B-Serum (Titer 1:2000) nicht,

3) durch Gärtner-Serum (Titer 1:6400) bis zum Endtiter agglutiniert.

Eine am 19. 7. mit dem Serum des Patienten angestellte Gruber-Widalsche Probe hatte folgendes Ergebnis: mit Typhusbakterien 1:100 positiv, mit Paratyphus B-Bakterien 1:50 negativ, mit dem eigenen Stamm 1:200 positiv.

Tierpathogenität: 5, nach den Angaben von Bernhard Fischer und Reiner Müller mit je 1 der isolierten Stämme gefütterte weiße Mäuse gingen sämtlich nach 5 Tagen ein. Aus Milz und Herzblut der eingegangegen Tiere wurden die gefütterten Bakterien regelmäßig wieder in Reinkultur herausgezüchtet.

Auf Grund des biologischen Verhaltens kann es sich bei dem isolierten Mikroorganismus nur um Bacterium enteritidis (Gärtner) handeln. Die Züchtung der Gärtner-Bakterien gelang mir

am 11. 7. aus Liquor,
am 13. 7. aus Liquor sowie aus Blut in Galle,
am 14. 7. aus Stuhl,
am 17. 7. aus Liquor sowie aus Blut in Galle,
am 19. 7. aus Stuhl und Urin,
am 20. 7. aus Obduktionsmaterial (2 Hirnabstrichen, Eiter aus dem rechten Mittelohr, Milzabstrich, Dick- und Dünndarminhalt).

Auf Grund der gesamten Untersuchungen kann es sich bei diesem Falle nur um eine Gärtner-Meningitis gehandelt haben. Versucht man, Entstehung und Verlauf der Krankheit zu klären, so liegt es nahe, die in der Anamnese angegebene Verdauungsstörung als eine intestinale Gärtner-Infektion anzusprechen und mit ihr die später auftretende Meningitis in Beziehung zu bringen. Für diese Annahme sprechen 1) die Agglutinine im Krankenblut, 2) der zweimalige Nachweis der Gärtner-Bakterien im Stuhl sowie einmal im Harn. 3) der zweimalige Nachweis der Gärtner-Bakterien im Blut. Gegen diese Annahme spricht jedoch 1) der doch immerhin nur geringe Grad der intestinalen Störungen, das Fehlen von Durchfällen sowie der vollkommen negative pathologisch-anatomische Befund von seiten des Darmtraktus. Auf den Nachweis der Erreger in der Milz möchte ich keinen zu großen Wert legen, da es sich dabei um eine postmortale Einwanderung handeln kann. Den Nachweis der Gärtner-Bakterien im Ohreiter möchte ich auch nicht in direkte Beziehung zur Entstehung der Meningitis setzen, da es sich um eine rechtsseitige Otitis media handelte und die Krämpfe nach den Angaben der Eltern und den Beobachtungen der Klinik stets im rechten Arm ihren Anfang nahmen; das Bewegungszentrum für den rechten Arm liegt bekanntlich in der linken Hirnhemisphäre. Es kann die Mittelohreiterung natürlich auch als sekundäre Infektion angesehen werden. Selbstverständlich bleiben, wenn die Meningitis auch wahrscheinlich als die Folge einer fast latent verlaufenen intestinalen Gärtner-Infektion anzusehen ist, Gründe und Wege der Infektion der Hirnhäute ungeklärt.

Die Rolle der Kamele in der Epidemiologie der Astrachaner Pest.

[Aus dem Reichsinstitut für Mikrobiologie und Epidemiologie für den Südosten Rußlands (Direktor: Professor Dr. S. M. Nikanorow).]

Von **S. M. Nikanorow.**

Mit 1 Kurve im Text.

Während der letzten 7 Jahre habe ich eine Reihe von Erfahrungen über die Rolle der Tiere (Mäuse, Zieselmäuse, Kamele) gesammelt, welche sie bei der Verbreitung der Pest spielen. Diese Beobachtungen

beim natürlichen Seuchengang und die Versuche, auf experimentellem Wege der Frage nachzugehen, habe ich in ausführlichen Arbeiten mit Tabellen, Kurven, Präparaten usw. niedergelegt. Ich verweise daher an dieser Stelle auf sie (1). Heute möchte ich nur kurz meine Ansicht und meine Gesamtbeobachtungen über die Rolle der Kamele zusammenfassen:

Das fortdauernde Glimmen und Weiterfliegen der Pestfunken in der Kirgisensteppe der Bukejewschen Horde wird von einer Reihe äußerst verwickelter Umstände ständig unterstützt und unterhalten. Die epidemiologischen Untersuchungen des letzten Dezenniums haben die Rolle der Zieselmäuse aufgeklärt und in letzter Zeit ist der Zusammenhang der Pestausbrüche mit der Pestepizootie unter den Haus- und Feldmäusen festgestellt worden. Es wäre jedoch ein großer Irrtum, die Frage für gelöst zu halten. In vielen Fällen bleibt die Entstehung der Epidemie, wie früher, unaufgeklärt. Denn die Zieselmäuse halten sich verhältnismäßig nur kurze Zeit an der Oberfläche der Erde auf (von April bis August), folglich weisen die Pestausbrüche im Herbst und Winter a priori auf eine anderweitige Entstehung hin und können von Zieselmäusen allein nicht herrühren.

Andererseits bleibt häufig die sorgfältigste Suche nach einer Pestepizootie unter den Mäusen in dem von der Pest betroffenen Gebiet erfolglos. In diesem Falle kommt uns die Beobachtungsgabe der Kirgisen zu Hilfe. Nicht selten hört man von ihnen, daß die Krankheit ihren Anfang genommen habe, n a c h d e m e i n k r a n k e s K a m e l g e s c h l a c h t e t u n d a u f g e z e h r t w o r d e n s e i. Solchen Reden wird gewöhnlich keine Bedeutung zugemessen. Man glaubte bisher, daß das ungebildete Volk, da es den feinen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Epizootie der Nagetiere und der Epidemie unter den Menschen nicht erfassen könne, diese Vorgänge durch naheliegende, ihn einleuchtende Gründe erklären müsse. Denn der Kirgise ist Viehzüchter; er lebt vom Vieh und denkt nur an sein Vieh. Die Hartnäckigkeit jedoch, mit welcher die Kirgisen den Zusammenhang der Pestepidemie mit der Kamelepizootie betonen, gab Veranlassung, der Kamelfrage ein ernstes Interesse entgegenzubringen.

In vielen Fällen haben wir es freilich nur mit leeren Behauptungen zu tun, welche das die Pest bekämpfende Personal von der örtlichen Bevölkerung zu hören bekommt. Bakteriologisch läßt sich dabei nichts erhärten. Ich führe sie nur darum an, um zu zeigen, wie tief diese Erklärung der Pestausbrüche im Volke wurzelt. Im folgenden gebe ich eine Reihe von Beispielen:

1907 wird der Pestausbruch im Flecken Tas-Aral des 2. Kreises durch Genuß von Fleisch eines kranken Kameles erklärt. Im Flecken Aktjube des 2. Kreises brach die Pestepidemie im Jahre 1913 vier Tage nach Abschlachtung eines mageren, scheinbar chronisch-kranken Kamels aus. Der Pestausbruch im Flecken Bulanoi (2. Kr.) im Jahre 1914 begann 3—4 Tage nach Abschlachtung eines kranken Kamels, dessen Fleisch unter den Mitgliedern von 3 Familien verteilt worden war, die dann späterhin an der Pest erkrankten. Die Pest im Flecken Tschagul-Menesch der 4. Wolost des Kalmücken-Rayons im Jahre 1914 wird auf das zur Speise zubereitete Fleisch eines kranken, geschlachteten Kamels zurückgeführt. Im Flecken Ulken-Tschagul erfolgte im Jahre 1915, die 1. Erkrankung an Beulenpest beim Abhäuten eines gefallenen Kamels. Im Flecken Gjuba in der Kalmückensteppe hatten die ersten an Pest Verstorbenen ein gefallenes Kamel abgehäutet. 1907 begann im Flecken Kas-Mala im Uralgebiete die Epidemie, nachdem ein krankes Kamel geschlachtet worden war, unter den mit dem Abhäuten beschäftigten und an dem rohen Fleisch herumhantierenden Leuten. Diese Liste ließe sich beliebig fortsetzen.

Genauere Daten über die Pesterkrankung des Kamels liefert das Jahr 1911. Ende August (vom 19. bis zum 28.) erkrankten in dem Flecken Saganaj 18 und starben 17 Menschen. Die Erkrankung erfolgte, nachdem ein krankes Kamel geschlachtet worden war, und zwar in den Familien, die das Fleisch unter sich verteilt hatten. Daß es die Pest war, bestätigte die bakteriologische Untersuchung. Das Fleisch wurde verzehrt und bakteriologisch nicht untersucht. Am 5. Sept. fiel in demselben Flecken eine Kamellstute, die 8 Tage krank gewesen war. Aus ihren Organen erhielt Dr. Deminsky reine Pestkulturen. Im Oktober desselben Jahres wurde in dem Flecken Aktschagul von Klodnitzky eine am 3. Tage gefallene Kamelstute untersucht. Die Obduktion bot das Bild hämorrhagischer Septikämie. Reine Pestkultur wurde unter großen Schwierigkeiten nach einer Reihe von Aussaaten und mißlungener Infektionen von Mäusen, Ratten und Meerschweinchen erzielt, was bei Vielen Zweifel an der Richtigkeit der Pestdiagnose erregte, die gewöhnlich keine Schwierigkeiten macht. Im November 1911 untersuchte Klodnitzky (2, 3) im Flecken Agschota des 2. Kreises einen 3. Fall von Kamelpest. Das Kamel wurde von einem Kirgisen geschlachtet und ein Teil des Fleisches noch am selben Abend aufgegessen. 1 Tag darauf erkrankte der Kirgise und starb. Nachdem aus derselben Familie noch 1 Person gestorben, hörte die Pest, dank den ergriffenen Maßnahmen auf. Aus den Organen der Gestorbenen und dem Fleische des Kamels wurde reine Pestkultur gewonnen.

Ferner gibt es noch einen Fall von Kamelpest, den Schukewitsch geschildert hat: Am 5. Nov. 1911 wurde ein krankes Kamel geschlachtet, das etwa 2 Wochen gekränkelt hatte und stark abgemagert war. Fleisch und innere Organe salzte man zum Vorrat für den Winter ein. 3 Tage danach erkrankte das Familienoberhaupt und starb. Da die übrigen Familienmitglieder den Tod des Greises der Krankheit des Kamels zuschrieben, vergruben sie, um der weiteren Verbreitung der Krankheit vorzubeugen, den ganzen Rest des Kamelfleisches. Am 19. März 1912 wurde das Fleisch hervorgezogen und von Schukewitsch im Laboratorium von Nowaja Rjasanka untersucht. Das Material wurde 2 Zieselmäusen subkutan eingespritzt, aus deren Blut und Organen durch Aussaat reine Pestkultur erzielt wurde. Dieser Fall würde von größtem Interesse sein, da nämlich hierdurch nachgewiesen wäre, daß Pestbakterien ihre Lebensfähigkeit und Virulenz $4^1/_2$ Monate lang in gesalzenem Kamelfleisch bewahrt hatten. Leider hatte der Autor bei seinem Experiment Zieselmäuse verwendet, die erwiesenermaßen häufig Träger der Spontanpest sind. Diese Tatsache vermindert den wissenschaftlichen Wert der Beobachtungen Schukewitschs natürlich stark.

Dies sind die Tatsachen, auf Grund deren man das Kamel als Verbreiter der Pest in den Astrachaner Steppen betrachten konnte. Die Frage schien somit ihrer endgültigen Lösung nahe gerückt zu sein. Es fehlte nur noch die künstliche Pestinfektion des Kamels. Beim positiven Ausfall des Versuches konnte dann die Frage über die Empfänglichkeit des Kamels für Pestmikroben als gelöst betrachtet werden.

Diese nahmen Tartakowsky und Schurupow auf dem Fort Alexander I. in Kronstadt vergeblich vor; denn das von Tartakowsky intravenös mit 24stünd. Kultur angesteckte Kamel zeigte nur Spuren mäßigen Unwohlseins und blieb gesund, während die gleichzeitig geimpften Kontrollmäuse an der Pest eineingingen. Auf dieses Experiment begründete sich die Ansicht über die Pestunempfindlichkeit der Kamele. Und ein anderer Versuch Schurupows (1912) schien den obigen Tatsachen Recht zu geben. Denn zur Herstellung eines Antipestserums behandelte er Kamele mit abgetöteten Pestkulturen vor, um dann zur Injektion lebendiger Kulturen überzugehen, die er in Massendosen (bis zu 3 Rouxkolben von Bouillonkulturen) steigerte, ohne daß die Tiere irgendwelche Krankheitszeichen boten.

Diese Versuche schienen Schurupow derart eindeutig für die Pestunempfindlichkeit zu sprechen, daß er sogar die Behauptung aufstellte, alle Forscher, die bis dahin Kamelpest beobachtet hätten, seien einer Täuschung durch den Bacillus bipolaris plurisept. anheimgefallen. Gleich ergebnislos waren die von der bakteriologischen Kommission unter Schukewitsch vorgenommenen Experimente, die 1912 in der Umgebung von Chanskaja Stawka ausgeführt wurden. Bei einem Tier gelang eine subkutane Infektion (nach Tötung des

Tieres — 9 Tage p. i. — positiver Nachweis von Pesterregern nur an der Impfstelle!).

Deshalb sollte von einer neugebildeten Kommission der Versuch im Fort Alexander I. wiederholt werden. Schurupow kam der Kommission jedoch zuvor und versuchte wiederum, selbständig ein Kamel mit Pest zu infizieren. Sein Bericht hierüber ist nur bei dem Moskauer Bakteriologenkongreß 1912 vorgetragen worden. Aus dem Sitzungsbericht ist allerdings eine etwas eigenartige Versuchsanordnung ersichtlich, denn mit der Zerstäubung getrockneter Agarkulturen und der Infektion sensibilierter P-Impfstoffe ließ sich wirklich ein Haften der Pest nicht erzielen.

Nach 6jähriger Unterbrechung wurde die Kamelpestfrage wieder akut.

Im Flecken Marseleu (2. Kr.) requirierte im Oktober 1917 bei einer Kirgisin ein Postbote ein Kamel. Nach 2 Wochen brachte man es ihr ermattet und abgemagert zurück. Von dieser Zeit an begann es zu kränkeln und am 15. Dez. wurde es, beinahe vor seinem natürlichen Ende, geschlachtet. Da die Frau die Arbeit nicht allein bewältigen konnte, lud sie ihre verwandten Nachbarn ein. Nach getaner Arbeit erhielten die Gäste ihren Fleischanteil und fuhren nach Hause. Nach 3—4 Tagen zeigten sich bei der Frau, ihrer Schwiegertochter und bei 2 Nachbarn in der Achselhöhle Beulen, die auch bald zu Komplikationen in den Lungen führten. In der Zeit vom 23. bis 26. Dez. starben sie alle. Die Obduktion bot das Bild typischer Lungenbeulenpest. Die bakteriologische Untersuchung bestätigte den Pestcharakter der Erkrankten. Der letzte der eingeladenen Gäste argwöhnte bei dem Kamel eine böse Krankheit, aß fast nichts von dem gleich nach der Schlachtoperation zum Schmaus zubereitetem Fleische und ließ den ihm zugefallenen Anteil eingraben. Er selbst erkrankte nicht, aber einige Zeit darauf kam die Nachricht, daß seine Frau an einer schmerzhaften Geschwulst des Armes erkrankt sei, wovon sie jedoch genas. Die inneren Organe des Kamels waren nicht zu finden.

Die Reste des gesalzenen Fleisches wurden bakteriologisch untersucht: Die Ausstriche zeigten spärliche bipolare Stäbchen; andere Mikroben fehlten. Ein Stückchen Fleisch wurde in physiologischer Lösung erweicht und die Emulsion einem Meerschweinchen in das Peritoneum eingespritzt. Das Meerschweinchen fiel am 4. Tage mit allen Merkmalen typischer intraperitonealer Pest. Bei näherer Bekanntschaft mit dem geschilderten Fall erwies sich, daß das kranke Kamel 2 Tage vor seinem Tode ein anderes, gesundes, in den Hals gebissen und nach den Worten der Kirgisen „es mit Blut angehustet hatte". 4 Tage darauf erkrankte dieses 2. Kamel und verendete nach 5 Tagen, am 23. Dez. Ich nahm die Obduktion mit Sanitätssoldaten gemeinsam vor. Doch grimmiger Frost und die ungeheure Schwierigkeit, den auf der Seite liegenden Kadaver zu öffnen, verhinderten es, einen genauen Einblick in das pathologisch-anatomische Bild zu gewinnen. Recht augenfällig war die Hyperämie der Lungen und zahlreiche Blutergüsse an den Darmwänden, der Pleura und dem Peritoneum. In den Ausstrichen aus allen Organen wurde bakteriologisch eine große Anzahl bipolarer Stäbchen konstatiert. Die Emulsion aus den Organen wurde einem Meerschweinchen in die Bauchhaut eingerieben. Unter typischen Erscheinungen der Experimentalpest verendete das Meerschweinchen am 7. Tage. Reine Pestkulturen wurden sowohl aus dem Fleische des 1. Kamels und des damit infizierten Meerschweinchens, als auch aus allen Organen des 2. Kamels und des mit deren Emulsion infizierten Meerschweinchens erzielt.

Dieser Fall, vielleicht von allen früher beschriebenen der hervorragendste, beseitigt jeden Zweifel über den Charakter der Erkran-

kung des Kamels, und zeugt außerdem mit der Exaktheit eines Experimentes für die Möglichkeit der Uebertragung der Pest von Kamel zu Kamel und von Kamel zu Mensch. Besonders beachtenswert ist, daß bei allen, die mit dem Fleisch des Kamels in Berührung gekommen waren, sich in der Achselhöhle eine Beule einstellte, zweifelsohne ein Resultat der Einreibung der Pestinfektion in die Haut der Arme oder eine Folge unbedeutender Verwundungen der Haut während der blutigen und schwierigen Operation der Zerstückelung des Kamelkadavers.

Interessant ist auch der Umstand, daß die Entwicklung der Krankheit des 1. Kamels durch die schwere 2wöchige Arbeit gefördert wurde, die augenscheinlich eine erhöhte Empfindlichkeit des Tieres gegen die Bakterien verursachte. Dieser Umstand, der von keinem der Forscher berücksichtigt worden war, ist möglicherweise von ausschlaggebender Bedeutung.

Wir sehen also, wie in einer Reihe von Pestausbrüchen im Astrachaner Gebiet die Kamele eine ansehnliche Rolle spielen. Dieser Umstand ist von weitgehender Tragweite. Denn das Kamel bedeutet für die Wirtschaft des Kirgisen alles. Es dient ihm zum Reiten, bei der Arbeit, zur Nahrung; aus seiner Wolle verfertigt er sich Pelz, Kissen, Decke, Bett, Kopfbedeckung und Seile, mit Kamelhäuten befestigt er seine Kibitka (Zelt), kurzum, es gibt keine Seite des Lebens, die nicht so oder anders mit der Kamelwirtschaft zusammenhinge. Doch nicht genug damit. Die Kirgisensteppe versorgt mit Kamelen die ganze russische Bevölkerung auf viele hundert Werst im Umkreise; die Kamelwolle ist einer der wichtigsten Exportartikel; und falls die Kamele Pestverschlepper sind, so bedroht eine Pestepidemie nicht nur die Kirgisensteppe, nicht nur die umwohnende russische Bevölkerung, sondern auch alle noch so entlegenen Länder, wohin Kamelhäute und Kamelwolle als Rohmaterial gelangen — natürlich mit dem Vorbehalte, daß eine dauernde Erhaltung der virulenten Peststäbchen unter diesen Bedingungen möglich sei. Wenn dem so ist, so gibt die Lösung der Kamelfrage Anstoß zur Sanierung des Astrachaner Gebiets. Es wird wohl dann so manche Pestepidemie unmöglich und viele Kirgisenleben gerettet werden. Mir will scheinen, daß diese Erwägungen in hinreichendem Maße die Notwendigkeit der Vornahme erschöpfender wissenschaftlicher Experimente betreffs der Infektion der Kamele durch das Pestvirus erheischen. Schon a priori war zu erwarten, daß man dabei auf manche Komplikationen stoßen werde.

Trotz des bestimmten Vorfindens pestkranker Kamele in der Steppe haben die bisher vorgenommenen Versuche bestenfalls nur ein unbestimmtes Resultat erzielt. Es ist einleuchtend, daß zum Zustandekommen einer Infektion des Kamels durch die Pest ein bestimmtes Zusammentreffen von Bedingungen erforderlich ist. Diese Voraussetzung findet ihre Bekräftigung darin, daß angesichts der kolossalen Pestverseuchung der Kirgisensteppe in Gestalt weitverbreiteterer Pestepizootien unter Mäusen, Zieselmäusen und der Pestepidemien, die sich über Hunderte von Quadratwerst erstrecken (die Epidemie im 2. Kreise der Kirgisensteppe im Oktober 1916 bis Februar 1917), Pesterkrankungen unter Kamelen verhältnismäßig selten vorkamen. Der Zweck meiner Untersuchungen war der, diese Erfahrungstatsachen der sich in der wissenschaftlichen Welt scheinbar einbürgernden Ansicht von dem Pest unempfänglichen Kamele durch Versuch erneut gegenüber zu treten. Unter natürlichen Bedingungen ist die Pestansteckung

der Kamele möglich: 1. durch die Haut, 2. durch den Darmkanal und 3. durch die Atmungsorgane.

Dem entsprechend wurde der Versuch nach dreierlei Richtungen hin angestellt: Einführung des Infektionsstoffes unter die Haut, intestinal und in die Luftröhren. Die nähere Bekanntschaft mit den Verhältnissen eines Falles spontaner Kamelpest berechtigte zu der Schlußfolgerung, daß Ermüdung, Hunger und Erschöpfung die Infektion fördern. Dieser Umstand gab Veranlassung zur Variierung des Versuches, indem sowohl normale, gesunde, kräftige Kamele, als auch solche angesteckt wurden, deren Widerstandsfähigkeit auf diese oder

Infektions-modus	Nr.	Allgemeiner Charakter der Versuchstiere	Impfmaterial	Vorbehandlung der Tiere
Subkutan	1	Normal, kräftig, gut gefüttert	Kultur „Kamel Marselen", verstärkt durch Mäuse- und Zieselmäusepassage	—
	2	Normal, mager, kräftig	dgl.	Arbeitete vor der Infektion bis zur Ermüdung
	3	Normal, kräftig, gut gefüttert	Dgl. Passage durch den Organismus des an Pest gefallenen Versuchskamels Nr. 8	—
	4	Normal, mager, kräftig, alt	dgl.	Arbeitete vor der Infektion bis zur Ermüdung
Durch Fütterung	5	Normal, kräftig, gut gefüttert	Kultur „Kamel Marseleu", verstärkt durch Mäuse- und Zieselmäusepassage	Vor der Infektion wurden ihm ins Maul blutende Einritzungen gemacht
	6	Normal, kräftig, gut gefüttert	dgl.	Hungerte vor der Infektion 25 Tage
	7	Mager, schwach	„	Leidet an chronischem Durchfall
Durch Inhalation	8	Normal, kräftig, gut gefüttert	„	—
	9	Normal, kräftig, gut gefüttert	Kultur „Kamel Marseleu" verstärkt durch Mäuse- und Zieselmäusepassage, darauf Passage durch das an der Pest gefallene Kamel 8	War bereits subkutan infiziert gewesen. Vgl. Nr. 1
	10	Normal, mager, schwach	dgl.	War bereits oral infiziert gewesen. Vgl. Nr. 7
	11	Normal, kräftig, mager	Menschenkultur „Kok-Sazde"	War bereits oral infiziert gewesen. Vgl. Nr. 5
	12	dgl.	Kultur „Maus-Marseleu"	War bereits oral infiziert gewesen. Vgl. Nr. 6
	13	Normal, kräftig, gut gefüttert	Kultur „Kamel Marseleu", Passage durch Mäuse, Ziesel und durch das an Pest gefallene Kamel Nr. 8	War bereits intravenös infiziert. Vgl. Nr. 14
Intravenös	14	dgl.	dgl.	—

jene Weise abgeschwächt war, oder die an chronischer Krankheit litten. Ferner, da der spezifische Charakter der Kamelkultur in Abrede gestellt werden konnte, mußten parallele Infektionen durch Menschenpestkultur angewandt werden, auch galt es, an die Frage der Immunität des Kamels gegen die Pest nach überstandener Krankheit näher heranzutreten und die Infektion zu widerholen.

Es erschien außerdem ratsam, die intravenöse Infektion zu widerholen, um dadurch den früheren Forschern gerecht zu werden, welche die Kamele durch venöse Einspritzung von Pestkulturen infiziert hatten und somit die Ursachen ihres Mißerfolges aufzudecken.

Indem wir das Gesagte zusammenfassen, bringen wir eine schematische Tabelle des Versuches in seinem ganzen Umfange (s. Tab. S. 29).

Auf diese Weise war eine bestimmte experimentelle Antwort auf folgende Fragen zu erwarten:

1. Ob die Kamele für Pestmikroben empfindlich sind und bejahenden falls, 2., unter welchen Umständen eine typische Erkrankung am häufigsten und leichtesten zu erzielen ist.

Zum Unterbringen der Versuchskamele diente eine große, aus Flechtwerk bestehende Scheune, die mit Lehm beschlagen, mit einer dicht schließenden Brettertür und automatisch schließender Oeffnung versehen war, durch welche den Tieren Heu und Wasser verabreicht wurde.

Für jede Serie von subkutaner, inhalierter, intravenöser und durch Fütterung eingeführter Infektionen gab es ein isolierendes Abteil Der ganze Bau war in einiger Entfernung von bewohnten Plätzen mit einem großen Graben umgeben zur vollständigeren Isolierung von der Außenwelt. Zu demselben Zweck wurden alle Arbeiten in der Steppe, abseits von aller Behausung, 7 Werst weit von Chanskaja Stawka vorgenommen. Das gewonnene Material bearbeitete man in nächster Nähe von den Versuchstieren in dem speziell dazu aufgeführten provisorischen Laboratorium.

Der Krankheitsverlauf, die Temperaturkurven, wie auch alle nach der Infektion beobachteten Veränderungen örtlichen und allgemeinen Charakters sind protokolliert. Hier bringe ich nur eine kurze Uebersicht:

1) Subkutane Infektion. Ich führte auf je 3 Pud lebenden Gewichts 1 ccm 48stündiger Bouillonkultur ein. (Durchschnittsgewicht 24 Pud = 380 kg.) Bei meinen Versuchsarbeiten mit Kulturen, die von spontanen Fällen von Pest bei Zieselmäusen, Feld- und Hausmäusen, Menschen und Kamelen gewonnen waren, fand ich zwar keinen erheblichen Unterschied in ihrer pathologischen Wirkung auf Versuchstiere, doch schien es mir besser, mit Kamelkulturen zu operieren, weshalb ich die Kultur „Kamel-Marseleu" bei den meisten Versuchen bevorzugte. Zum Vergleich wurde jedoch auch die Menschenkultur „Kok-Sazde" und Mäusekultur „Marseleu" angewandt. Das Impfmaterial wurde links unter die Halshaut in der Nähe der lymphatischen Brustdrüse eingeführt, in der Voraussetzung, daß die Brustdrüse die Reaktion auf die eingeführte Kultur deutlich anzeigen werde. Bei allen 4 subkutan geimpften Kamelen konnte man mit voller Bestimmtheit konstatieren, daß das Pestgift für den Kamelorganismus durchaus nicht indifferent ist. Schon gegen Mittag des 2. Tages und nicht später als am 3. Tage zeigte sich an der Einspritzungsstelle eine augenfällige, schmerzende Anschwellung. Etwas später konnte man dieselben Erscheinungen an

der linken lymphatischen Brustdrüse beobachten, wobei sich in einem Falle ein schmerzhafter Strang deutlich herausfühlen ließ — ein entzündeter lymphatischer Gang von der Einspritzungsstelle zur entsprechenden Brustdrüse. Mit jedem Tage treten diese Erscheinungen immer deutlicher hervor und am 6.—7. Tage erreichen sie ihr Maximum. An der Einspritzungsstelle finden wir eine erweiterte, sehr schmerzhafte Geschwulst, die entsprechende Brustdrüse ist um das zweifache vergrößert, sehr schmerzhaft und unbeweglich. Der weitere Verlauf der örtlichen Erscheinungen hängt davon ab, mit welchem Erfolg der Organismus gegen die Infektion ankämpft. In Genesungsfällen war schon am 8.—9. Tage der Krankheit ein Abfall der Schmerzhaftigkeit und Anschwellung an der Einspritzungsstelle in der Brustdrüse zu konstatieren.

Von 4 subkutanen Infektionen endeten 2 letal. Es fielen diejenigen Versuchstiere, deren Widerstandsfähigkeit auf künstliche Weise dadurch herabgesetzt worden war, daß man sie vor der Infizierung lange und viel bis zur völligen Ermattung hatte arbeiten lassen. Bei allen Versuchen wurde ausnahmslos ein deutliches Bild der Beulenpest erzielt. Der charakteristische Symptomenkomplex tritt umso schärfer hervor, je stärker die Reaktion auf die Infektion, je kräftiger und gesunder das Versuchstier ist. Es kann als Regel gelten: geschwächte Tiere bieten ein verspätetes, nicht scharf ausgeprägtes Bild mit kaum nachweislicher Temperatursteigerung[1]). Deshalb ist auch die Krankheitsdauer so verschieden, von 9—32 Tagen. Bei diesem Verfahren kommen nur die schwachen um, wogegen die starken überleben, doch liefern alle ein bestimmtes klinisches Bild.

2) Infektion durch Fütterung: Es ist natürlich, Darminfektion — die Infektion durch den Magen-Darmkanal — wie sie in den Verhältnissen der Kirgisensteppe nicht nur möglich, sondern sogar unausbleiblich ist, anzunehmen. Denn das ungeheure Territorium der Kirgisensteppe wimmelt von Zieselmäusen, unter denen weitverbreitete Pestepizootien eine gewöhnliche Erscheinung sind. Die Darmform der Pest bei Zieselmäusen, die bewiesen ist, schafft günstige Vorbedingungen. Denn durch die Faezes der Zieselmäuse werden die Pflanzen mit dem Pestgift beschmutzt, und gerade von diesen Pflanzen nähren sich die Kamele 8—9 Monate lang. Anderseits kommen in dem versandeten Teil der Steppe häufige Pestepizootien unter den Mäusen vor und mit dem Heu kann die Infektion leicht in den Kamelmagen gelangen. Bemerkenswert ist, daß trächtige Kamelstuten bisweilen Zieselmäuse verzehren und die Kirgisen bei gewissen Kamelerkrankungen Zieselmäuse gewaltsam verfüttern.

Diese Umstände berechtigen daher zu der Annahme, daß der Infektionsstoff in den Magendarmkanal der Kamele eindringen kann. Aus diesem Grunde versuchte man, das Kamel durch Verabreichung von Peststoff enthaltendem Futter zu infizieren. Die Methode besteht in folgendem: etwa 10 russ. Pfund (= 4000 g) grob zerhackter grüner Stacheln, ein Lieblingsfutter der Kamele, wird mit 150—250 ccm 48stündiger Pestbouillon begossen. Nachdem das Futter vom Kamele aufgezehrt war, schüttete man in den Trog etwa 1 Eimer Wasser, das sogleich getrunken wurde; so gelangten in den Magen des Kamels durch-

1) Ueber die Physiologie der Kamele besteht eine äußerst spärliche Literatur, die fast keine Aufschlüsse über die Normaltemperatur des Kamels enthält.

schnittlich 200 ccm Bouillonkultur. Zur Klarlegung der Umstände, die der Infektion förderlich sind, wurden einem Kamel vor der Ansteckung im Maule Schrammen bis aufs Blut beigebracht, ein 2. hungerte 25 Tage, ein drittes litt längere Zeit vor der Injektion an chronischer Diarrhoe und war deshalb schwach und abgemagert.

Nach 2—3 Tagen Inkubationsperiode traten bei allen Tieren Symptome der Beulenpest mit Anschwellung und Schmerzhaftigkeit der Unterkieferlymphdrüsen auf. Anscheinend steht dies im Zusammenhang mit dem Eindringen der Infektion durch die Schleimhaut des Maules während des Kauens, oder als Folge vielfacher Verwundungen der Schleimhaut mittels der spitzen, vergifteten Enden der Stacheln. Gefördert wurde der Prozeß durch die vorausgegangene Verwundung der Schleimhaut. Aber auch ohnedies stellten sich bei den 2 anderen Symptome einer Unterkieferbeule ein; es ist begreiflich, daß die Verwundung der Schleimhaut mittels der spitzen Stachelenden und die darauf erfolgende Einreibung des Infektionsstoffes die Bildung der Beule hervorrufen konnte.

Was die allgemeinen Erscheinungen betrifft, so konnte man ausnahmsweise eine Temperatursteigerung bis 40,1°, allgemeine Mattigkeit und dergleichen konstatieren. Es kam zu keinem Todesfall. Es wurde sogar ein Kamel, das eine scharf ausgeprägte Unterkieferbeule und heftige Diarrhoe als Infektionserfolge aufwies (in den Fäkalien Peststäbchen), trotzdem das Tier stark erhöhte Temperatur und schwere Zustände aufwies, gesund. Der Tierarzt N. S. Fedorow und ich hielten alle 3 Tiere für gesund, ohne zu argwöhnen, daß bei dem einen von ihnen der Pestprozeß noch fortdauern und im weiten Magen und Dünndarme sich lokalisiert haben könnte. 40 Tage nach der Fütterungs-Infektion wurde dieses Kamel zum 2. Mal durch Inhalation infiziert; es fiel am 9. Tage eines typischen Lungenleidens. Die Obduktion wies außer vollentwickelter Pestpneumonie einen akuten Entzündungsprozeß der Magen- und Dünndarmschleimhaut auf. Freilich läßt sich nicht mit Sicherheit behaupten, daß diese Erscheinungen des Magen-Darmtrakts mit dem Lungenprozeß nichts gemeinsam haben und nicht irgendwie miteinander in Verbindung stehen. Aber das Fehlen solcher Veränderungen bei den anderen 5 Kamelen, die durch Inhalation fielen, berechtigen zu der Vermutung, daß diese Veränderungen eine Infektionsfolge durch Fütterung nach 25tägigem Hungern sind. Ist dies jedoch der Fall, so sind wir gezwungen, dieser Tatsache eine überaus wichtige Bedeutung in der Pestepidemiologie des Astrachaner Gebietes beizumessen. Im Verlauf von 48 Tagen machte sich der Magendarmprozeß klinisch durch keine Erscheinungen bemerkbar und schuf zugleich einen günstigen Boden zur Verbreitung der Pestinfektion durch die Exkremente. Die Pestepidemie im Astrachaner Gebiet, die bei näherer Bekanntschaft eine äußerst verwickelte Erscheinung ist, bekäme eine ideale Erklärung, wenn es glücken sollte, einen lebendigen Träger, gewissermaßen einen geheimen Pestverbreiter, zu entdecken. Der geschilderte Fall, der leider nicht bis zu Ende verfolgt werden konnte und daher nicht überzeugend ist, verlockt immerhin zu weiterem Arbeiten in dieser Richtung. Wir sehen also, daß bei Einführung des Infektionsmaterials in den Magen-Darmkanal sich Merkmale von Beulenpest beobachten lassen. Darmerscheinungen fehlen meistens; im allgemeinen ist das Krankheitsbild minder scharf umrissen und die Krankheit wird verhältnismäßig leicht überwunden, wobei die ört-

lichen und allgemeinen Erscheinungen um so deutlicher auftreten, je kräftiger der Organismus ist.

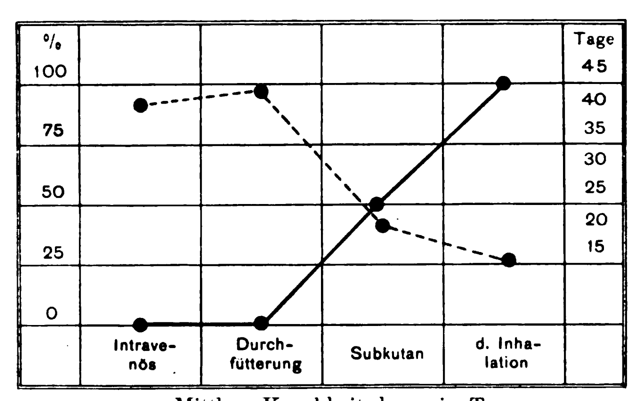
3. Infektion durch Inhalation: Besonders verlockend schienen die Versuche der Pestinfektion der Kamele durch Einatmung pulverisierten, virulenten Peststoffes schon deshalb, weil, wie mir bekannt war, solche Versuche, die mit unzweifelhafter Gefahr für den Experimentator verbunden sind, noch von keinem Forscher angestellt worden waren, zugleich aber in allen bekannten Fällen spontaner Kamelpest die Lungenveränderungen in den Vordergrund treten; folglich konnte man mit gewissem Recht voraussetzen, daß der Infektionsstoff mit der eingeatmeten Luft eindringe. Auf diese Weise wurden sechs Kamele infiziert, davon 5 zum 2. Mal nach erfolgter Genesung von der subkutanen, intravenösen und Magendarminfektion. Durch diese abermalige Infektion sollte das Vorhandensein der Immunität nach überstandener Krankheit aufgeklärt und das mir zur Verfügung gestellte Tiermaterial zweckmäßig ausgenützt werden. Von den 6 Tieren gingen 4 ein, 2 aber wurden erschossen, da die Arbeit eingestellt werden mußte; beide waren augenscheinlich krank, das eine kurz vor seinem Tode in äußerst schwerem Zustande, das andere mit scharf ausgeprägten Anzeichen klinischer Pneumonie. Bei allen 6 war nach 2—3tägiger Inkubationsperiode ein und dasselbe typische Bild der Pneumonie zu beobachten, das bald stürmischer, bald langsam und träge verliefen; örtliche Erscheinungen manifestierten sich durch Anschwellung und Schmerzhaftigkeit der der Einführungsstelle der Infektion zunächst gelegenen Unterkieferdrüsen und durch so starken Husten, daß man schon von ferne Lungenerkrankung konstatieren konnte. In einem Falle typischer Pneumonie, der am 8. Tage nach der Infektion tödlich endete, wurde eine Ausscheidung von blutigem Schleim aus der Nase beobachtet, welcher dem flüssigen Pestauswurf sehr ähnlich schien. Die Temperatursteigerung hielt auch hier, wie schon oben erwähnt, nicht immer Schritt mit der Verschlimmerung der Krankheit. Bemerkenswert ist, daß die Temperatur des Kamels Nr. 12 bei deutlichem klinischen Bilde von Pneumonie, schwerem allgemeinem Zustande und verhältnismäßig schnellem Tode erst am letzten Tage seines Lebens erheblich stieg, zugleich zeigte die Obduktion eine verbreiterte, prägnante Affektion beider Lungen. Bei einigen Tieren blieb die Temperatur während der ganzen Krankheit in den Grenzen der Norm. Man hatte den Eindruck, als reagiere der kräftige Organismus auf die Einführung der Infektion durch starke örtliche und allgemeine Erscheinungen, der schwache, erschöpfte dagegen träge. Bei Infektion durch Einatmen gab es keine Genesung. Auf Grund der Angaben über die Pestausbrüche in den Kirgisensteppen des Astrachaner Gebiets ist die Pestpneumonie für das Kamel ebenso tödlich wie für den Menschen. Für eine lange Reihe von Jahren der Pestendemie gab es keine Fälle von bakteriologisch bewiesener Lungenpest des Menschen mit glücklichem Ausgang.

Anscheinend übte die zuvor überstandene Pesterkrankung auf den Verlauf der Pestpneumonie absolut keinen Einfluß aus. Die Erklärung dieser Tatsache ist in den serologischen Untersuchungen zu finden. Sogar das unverdünnte Serum des Kamels agglutiniert nie Bact. pestis, wie abermalige Untersuchungen nachgewiesen haben. Bei allen Versuchstieren wurde vor der Infektion 2mal auf Agglutination mit Bact. pestis geprüft und jedesmal mit negativem Resultat. Die

überstandene Erkrankung an subkutaner und Magen-Darm-Pest ergab eine Maximalsteigerung des Titers bis 1 : 5. Hierin liegt augenscheinlich die Ursache der geringen Widerstandsfähigkeit des Organismusses gegen die neue Infektion. Hier sei besonders auf analoge Vorgänge beim Menschen hingewiesen, wie man sie nach den Beobachtungen während der Odessaer Pest im Jahre 1910 beobachtet hat.

4. Durch intravenöse Infektion. Indem ich die Arbeiten von Tartakowsky und Schurupow wiederholte, beabsichtigte ich, die Gründe zur Annahme der Forscher, als seien die Kamele gegen Pest unempfindlich, aufzuklären. In die Jugularis wurden 10 ccm 48stünd. Bouillonkultur eingeführt. Die einzige Folge davon war eine starke Diarrhöe, die 7 Tage lang ohne Beimischung von Blut und Peststäbchen währte. Es liegen keine Gründe vor, dieselbe für spezifisch zu halten. „Eine schnell vorübergehende und nicht sehr erhebliche Temperatursteigerung", um Schurupows Worte zu gebrauchen, das einzige was an dem Kamel zu beobachten war. Das Resultat der intravenösen Infektion war so einseitig negativ, daß es keines Kontrollversuches mehr bedurfte.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen (Kurve 1): Es ist klar, daß die Lungen des Kamels den Pestmikroben gegenüber ein locus minoris



------ Mittlere Krankheitsdauer in Tagen,
——— Proz. der Mortalität.

Kurve 1.

resistentiae sind. Wird die Infektion auf diesem Wege eingeführt, so kann man leicht und sicher die experimentelle Pestpneumonie hervorrufen. Nur so, nicht anders, läßt sich die schon oben erwähnte Tatsache erklären, daß in allen Fällen spontaner Kamelpest die Veränderungen des Lungengewebes stets an 1. Stelle stehen.

Die subkutane Pestinfektion führt den Tod nur in ganz besonderen, den letalen Ausgang fördernden Fällen herbei. Die Magendarmansteckung wird, wenngleich mühsam doch schließlich überwunden; gänzlich resultatlos verläuft die intravenöse Einführung der Peststäbchen. Dies mag wohl der Grund sein, weshalb Tartakowsky und Schurupow, nach Erzielung einer nur nichtigen Reaktion auf die intravenöse Infektion die Kamele für unempfindlich halten konnten. Der positiven Lösung der Frage war die Bakteriologenkommission näher gekommen, die mit der subkutanen Methode in der Umgebung von

Stawka im Jahre 1912 experimentierte, und wenn diese Versuche hätten zu Ende geführt werden können, so wäre das Ergebnis, unter gewissen Bedingungen, vielleicht anders ausgefallen.

Die Inhalation bietet die beste Lösung unserer Frage.

Bakteriologische Untersuchungen: Die Bakterioskopie der Organausstriche ermöglicht es, die Verteilung der Peststäbchen in den Organen sezierter Kamele zu verfolgen. Als Regel gilt die beständige Anwesenheit unzähliger Peststäbchen bei der Bubonenform im primären Bubo, bei primärer Pestpneumonie in den Verdichtungsherden. Das ist in gleichem Maße für alle gegen Pest empfindliche Lebewesen charakteristisch und das Kamel bietet hierin keine Ausnahme. Die Stäbchen sind größtenteils typisch, aber bei Beginn des eitrigen Bubozerfalls wie auch des Verdichtungsherdes erscheinen in großer Menge Involutionsformen. Die primären Bubonen zweiter Ordnung und die sekundäre Pneumonie zeigen bisweilen auch das Bild massenhafter Anhäufungen von Peststäbchen, was jedoch selten vorkommt. Viel häufiger fehlen die Stäbchen, oder es treten nur einzelne Exemplare auf. Niemals gelang es, in der Milz eine größere Menge von Peststäbchen zu beobachten, was doch für die Pest beim Menschen, Meerschweinchen, Mäusen und Zieselmäusen so charakteristisch ist. Sogar bei stürmischem Verlauf der Krankheit und schnell eintretendem Tod wird nur eine geringe Menge Stäbchen entdeckt, bei andauerndem Verlauf der Krankheit werden sie gar nicht vorgefunden. In der Leber, den Nieren und dem Inhalt des Magen-Darmkanals zeigen sich nur vereinzelte Exemplare, aber auch diese fehlen oft ganz. Vielmals mußten wir uns überzeugen, daß die Klarheit des klinischen, pathologisch-anatomischen und bakterioskopischen Bildes von der Art und Weise der Reaktion des Organismus auf die Einführung der Infektion abhängt.

Man hatte den Eindruck, daß, je kräftiger der Organismus, desto prägnanter die Reaktion auf die Einführung des Infektionsstoffes sei, desto klarer das pathologisch-anatomische und bakterioskopische Bild sich gestaltete. Ein schlaffer Organismus liefert ein unklares klinisches Bild, der Verlauf der Krankheit verlangsamt sich und an die Stelle eines typischen Bildes tritt scharf ausgeprägte Kachexie und nur das Experiment an Versuchstieren vermag den Pestcharakter der Erkrankung nachzuweisen.

In sämtlichen Fällen wurden die Pestkulturen teils unmittelbar aus den Organen, teils aus dem gewonnenen Material der damit infizierten Meerschweinchen und Zieselmäuse gewonnen. Sowohl nach ihren Kulturmerkmalen, als auch nach ihrer Pathogenität gegenüber den Versuchstieren gehören sie zu den typischen Pestkulturen.

Es gelang mir nicht, einen wesentlichen Unterschied in den Eigenschaften der gewonnenen 8 Kulturen zu entdecken und doch waren es Menschen-, Kamel- und Mäusekulturen. Freilich war das Material zu gering, um daraus Schlüsse zu ziehen, doch erwies es sich in gleichem Maße pathogen für Kamele. Auch konnte weder eine Steigerung, noch eine Abschwächung der Virulenz der Kulturen nach ihrer Passage durch den Kamelorganismus konstatiert werden. Diese Erwägungen sind wohl kaum von wesentlicher Bedeutung unter denjenigen Faktoren, die das Verständnis der Pestendemie in den Kirgisensteppen des Astrachaner Gebietes in dieser oder jener Weise fördern.

Schluß. Keine der Pestfragen hat soviel Kontroversen hervorgerufen, besonders im Kreise der Pestbekämpfer im Südosten Ruß-

lands, als diejenige über die Rolle der Kamele in der Epidemiologie der Astrachaner Pest. Kein Wunder, da das Kamel in diesem Bezirk eine Größe darstellt, mit der gerechnet werden muß. Von der Lösung dieser Frage hängt in hohem Maße die Bekämpfungsmethode der Pest und die Erkenntnis ihrer endemischen Ursachen ab. Daher kam es, daß die Erfolglosigkeit der Versuche, ungeachtet der Feststellung spontaner Kamelpest, Veranlassung gab, die Richtigkeit der bakteriologischen Befunde zu bezweifeln und sogar die Möglichkeit der Kamelpest völlig zu leugnen. Die Unzuverlässigkeit, ja Gefährlichkeit einer solchen Fragestellung in der so wichtigen Angelegenheit der Gebietssanierung leuchten wohl ein. Daher denn jede neue Bestätigung einer Möglichkeit spontaner Pesterkrankung der Kamele einerseits und der auf experimentellem Wege erbrachte Beweis deren Empfindlichkeit gegen die Pest andererseits von ausschlaggebender Bedeutung ist. Der 3. Punkt der Kochschen Trias ist somit erfüllt und zugleich kann man die Frage über die Empfänglichkeit der Kamele für die Pest als gelöst betrachten. Jedoch in Berücksichtigung der schwierigen und gefährlichen Experimente mit solchen Tieren wie Kamele und der äußersten Beschränkung der materiellen Möglichkeiten konnte ich jedoch die völlige Lösung vieler hier berührter Fragen nicht erzielen. Ebenso war es unmöglich, der Frage über den Mechanismus der Kamelinfektion in natürlichen Verhältnissen im Versuch nachzugehen. Eine Rolle spielen in diesen Fällen anscheinend die das Grünfutter infizierenden Zieselmäuse oder, was noch wahrscheinlicher ist, die Mäuse, die das Heu infizieren und dadurch Bedingungen schaffen, die der Infektion durch Inhalation förderlich sind. Alle diese Fragen harren noch des Forschers. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Lösung der Kamelfrage bezüglich der Pestbekämpfung für den Südosten Rußlands von besonderer und großer Wichtigkeit ist. Mit jedem Jahre erweitert sich unaufhaltsam der Sandstreifen, der sich vom Kaspischen Meere an nordwärts hinzieht. Allein nach den Angaben der Bukejewschen Horde versanden jährlich 200000 Desjatinen (1 Desj. = 1,0925 ha). Dadurch vergrößert sich zugleich die Heimat der Kamele, welche in dem salpetrigen Sandboden die besten Bedingungen für ihre Existenz finden. Wenn die Verbreitung der Zieselmäuse aus den pestendemischen Bezirken der Kirgisensteppe neue Pestherde in der Kalmückensteppe, im Donschen Gebiet (Nowo-Petrowskaja, Kalatsch), im Gouv. Zaryzin (Pestschanka) geschaffen hat, und die Gouvernements Saratow und Woronesh unmittelbar bedroht, so wird die zunehmende Ansiedlungszone der Kamele eine neue Heimstätte für die Pest schaffen und zugleich eine neue Basis zur Erhaltung und Verbreitung des Pestgiftes bilden, ganz besonders, wenn durch spätere Untersuchungen nachgewiesen werden sollte, daß die Kamele imstande sind, die Pestinfektion dauernd in sich zu tragen, ohne dabei auch nur ein klinisches Krankheitsanzeichen sich verrät.

Dem Tierarzt N. S. Fedorow bin ich für seine schätzenswerten Hinweise und seinem Rate in Fragen der Anatomie und Physiologie der Kamele und für sein stetiges Interesse an meiner Arbeit zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

1) Die Spontanpest der Kamele in der Astrachaner Steppe und die Pestübertragung vom Kamel auf den Menschen sind einwandfrei

festgestellt. — 2) Es gelang die künstliche Pestansteckung der Kamele auf subkutanem Wege, durch Fütterung und durch Inhalation. Die intravenöse Impfung verlief ergebnislos, wie bereits früher von russischen Forschern festgestellt wurde. Die Empfänglichkeit des Kamels für die Pest ist somit auch experimentell bestätigt. — 3) Die Möglichkeit, daß das Kamel als Pestvirusträger anzusehen ist, die sich auch aus unseren Versuchen ergibt, läßt die Rolle des Kamels in der Pestepidemie in neuer praktischer und wissenschaftlicher Bedeutung erscheinen.

Schriftennachweis.

1) Die Pest in Rußland. I. Die Pestarbeiten d. Saratower Reichsinstituts von 1917—24. (Ref. Zeiss, Münch. med. Woch. 1925. Nr. 33.) — 2) Klodnitzky. Ueber die Frage der Empfänglichkeit der Kamele für die Beulenpest. (Wratschebnaja Gaseta. 1912. Nr. 8 [Russisch]). — 3) Deminski, Klodnitzky u. a. Untersuchung zur Frage der Pesterkrankung der Kamele (Westnik obsch. Gigieni. 1913. Nr. 3 [Russisch]).

Zur Frage nach der Empfänglichkeit der weissen Mäuse für Rotz und ihrer diagnostischen Geltung.

[Aus dem Laboratorium der Klinik für Infektionskrankheiten der Universität Simferopol (Prof. A. Dwushilny).]

Von Dr. **S. S. Sabolotny** (Simferopol).

II.

I. Die experimentellen Arbeiten mit Rotzinfektion bei weißen Mäusen wurden gleich in den ersten Jahren nach der Entdeckung des Rotzbazillus begonnen. Die dabei erhaltenen Resultate erwiesen sich als widersprechend. Babes, Nocard, Shattock, Galli-Valerio und teilweise auch Loeffler fanden, daß die weißen Mäuse rotzempfänglich sind, während sie sich in zahlreichen Versuchen von Kitt, Finger und Leo (gleich den grauen Mäusen nach Kitt) als vollständig immun erwiesen.

Wir führen einige Angaben über diese Versuche nach A. Wladimirow an (Handb. von Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 5. 1913. S. 1110—1113 u. 1120).

Von Loefflers (1886) 10 mit Rotzkultur infizierten weißen Mäusen krepierte bloß eine einzige nach 7 Wochen mit Rotzknoten in der stark vergrößerten Milz. — Bei Babes (1891) krepierten 2 weiße und 3 graue Mäuse 8—17 Tage nach der Ansteckung mit der reinen Kultur, wobei in der enorm hyperplasierten Milz und teilweise in der Leber miliare Knötchen resp. Abszesse nachgewiesen wurden. — Nach Nocard (1892) tötete die Kultur, aus welcher Roux sein Mallein vorbereitete, die weißen Mäuse schon nach 30 Std. — 2 weiße Mäuse Shattocks (1898) starben 2—3 Wochen nach der Rotzansteckung. — Bei Galli-Valerio (1899) erlag eine weiße Maus 18 Tage nach der Ansteckung mit reiner Kultur, wobei in der Milz und in den Lungen viele Knötchen nachgewiesen wurden, während eine graue und eine schwarze Maus völlig immun blieben.

Nach Leo erwiesen sich die weißen Mäuse als empfänglich nur nach der künstlichen Abschwächung ihrer natürlichen Widerstandsfähigkeit mittels phloridzinischen Diabetes: von 49 Mäusen mit Diabetes erlagen dem Rotz 47, während 45 Kontrollmäuse sich als völlig immun erwiesen.

Bemerkt muß noch werden, daß in den meisten sehr verbreiteten Handbüchern, mit Ausnahme des oben erwähnten von Kolle-Wassermann und der (russischen) „Medizinischen Mikrobiologie" von Tarassewitsch (in beiden Wladimirows Aufsätze), die weißen Mäuse als wenig oder gar nicht rotzempfänglich gelten.

Bei der Nichtübereinstimmung der bisherigen Ergebnisse verschiedener Autoren und dem Mangel einer bestimmten Meinung hinsichtlich dieser Frage gestatten wir uns daher, unsere Versuche mitzuteilen.

Im ganzen hatten wir 13 weiße Mäuse (Männchen). Die Infektion erfolgte subkutan; als Material für die Impfung dienten in einigen Fällen der Rotzeiter (von Menschen und Maus), in anderen reine Kulturen des B. mallei. Obgleich sowohl der Eiter, wie auch die Kulturen verschiedenen Ursprungs waren, hingen doch die Resultate der Infektion, und hauptsächlich die Dauer der Krankheit und das pathologisch-anatomische Bild beim Sezieren (leider wurden keine Schnitte gemacht) nur davon ab, ob die Mäuse mit dem Eiter oder mit reiner Kultur angesteckt waren. Wir teilen daher unsere Befunde in zwei Gruppen: Gruppe A aus 6 mit Eiter und Gruppe B aus 7 mit Kultur infizierten Mäusen.

Gruppe A. Aus den 6 Mäusen dieser Gruppe (s. Tab. Nr. I) wurden 4 (Nrn. 1—4) in verschiedener Zeit mit frischem Eiter aus den subkutanen Infiltraten des Kranken Chw—ow (Fall eines chronischen Rotzes) und die 2 letzteren (Nrn. 5—6) mit dem aus der Milz der Maus Nr. 4 derselben Gruppe (also 2. Generation) infiziert. In den meisten Fällen gelang es nicht, in den Ausstrichen des eingeführten Eiters irgendwelche Mikroorganismen nachzuweisen; die Aussaaten aber aus demselben gaben immer nur reine Kultur des B. mallei, mit einer Ausnahme, wo der der Maus Nr. 1 eingeführte Eiter auch bei der Aussaat keine Kultur gab. Der Eiter (1—2 Oese pro Maus) wurde vor der Injektion durch sterile physiol. Kochsalzlösung emulgiert.

Zum Unterschiede von der Gruppe B (s. unten) gingen hier alle angesteckten Mäuse ein, wobei der Krankheitsverlauf kein akuter war, sondern sogar chronisch war, indem er bei 5 Mäusen 5—6 Wochen und in 1 Falle (Maus Nr. 4) sogar 13 Wochen dauerte. Es gelang uns, mittels Aussaat aus der Milz, dem Herzen und der Leber aller dieser Tiere eine reine Rotzkultur zu züchten (Wachstum auf den Nährböden und Agglutination); bakterioskopisch waren Rotzbazillen nur in den Eiterausstrichen (Milz, Drüsen usw.) nachgewiesen.

Tabelle I.

Maus Nr.	Datum der Ansteckung und des Todes	Abstammung des eingeführten Eiters	Anmerkungen
1	1924—16. 4. 1924	Infiltrate des Kranken Chw—ow	Starke Empfindlichkeit gegen Temperatur und Prozeß in den Geschlechtsdrüsen
2	23. 4. 1924—26. 5. 1924		
3	30. 10. 1924—11. 12. 1924		Haben gleiche Eiterdose bekommen
4.	30. 10. 1924—4. 2. 1925		
5	6. 2. 1925—17. 3. 1925	Milz der Maus Nr. 4 (derselben Gruppe)	Eines und desselben Wurfes; Nr. 6 hat 2mal so viel Eiter bekommen als Nr. 5.
6	6. 2. 1925—13. 3. 1925		

Es ist interessant, daß ceteris paribus der Unterschied der Dose des Virus auf die Dauer der Infektion nicht wirkte. So krepierten die Mäuse Nr. 5 u. 6 (desselben Wurfes), welche mit gleichem Eiter am 6. 2. 1925 in verschiedenen Dosen infiziert wurden (s. Tab. I), fast nach dem gleichen Zeitraum, während von den mit gleichen Stoffmengen desselben Eiters am 30. 10. 1924 geimpften Mäuse Nr. 3 u. 4 die eine (Nr. 3) nach 5, die andere (Nr. 4) nach 13 Wochen einging. Es scheinen hier Schwankungen rein individuellen Charakters vorzuliegen. Bemerkenswert ist auch, daß die Virulenz des Eiters bei Passage von Maus (Nr. 4) zu Maus (Nr. 5 u. 6) nicht zugenommen hat (s. Tab.).

Bei der Sektion aller Mäuse dieser Gruppe wurde ein eigentümliches, sehr anschauliches pathologisch-anatomisches Bild beobachtet, welches wir für spezifisch bei Ansteckung mit Rotzeiter halten möchten. Das betrifft hauptsächlich die Milz. Diese stellte einen großen, dichten, rosig-rötlichen Körper dar, welcher durchgehends von Rotzpusteln verschiedener Größe — vom Nadelkopfe bis zum Erbsenkorn — bestreut war. Diese Pusteln enthielten eine dichte, bisweilen sogar käsige Masse von weißgelblicher Farbe, welche dem Eiter der nicht geöffneten Infiltrate des Kranken Chw—ow ziemlich ähnelte. Die Milz nahm einen bedeutenden Teil der Bauchhöhle ein und war an die benachbarten Organe und an die Bauchwand angewachsen. Bei allen Mäusen sah man weiter einige winzige, nur bei sorgfältiger Beobachtung bemerkbare Fleckenknötchen an der Leber, hauptsächlich an ihrem freien Rande, und an den Lungen. In den meisten Fällen waren die Inguinaldrüsen auf der Injektionsseite vergrößert und leicht vereitert. An der Injektionsstelle unter der Haut fand sich eine kleine Eiteranhäufung, wobei die Haut mit dem unterliegenden Gewebe verwachsen war. In einigen Fällen endlich konnte man eine beträchtliche Ueberfüllung der Harnblase konstatieren.

Im Zusammenhang mit der bedeutenden Vergrößerung der Milz fand sich bei diesen lebenden Mäusen während längerer Zeit eine Vergrößerung des Bauches mit deutlichem Hervorragen der Seitenwände. 2—3 Wochen vor dem Tode zeigten alle Mäuse ein deutlich krankhaftes Aussehen (gesträubtes Haar, trübe Augen, Trägheit usw.).

In 1 Falle, und zwar bei Maus Nr. 1, wurden noch 2 interessante Erscheinungen beobachtet: Kurz nach der Ansteckung (6. Tag) trat bei ihr übermäßige Empfindlichkeit gegen äußere Temperatur (8—10°) ein, weshalb sie im Thermostat oder neben diesem gehalten wurde; von der 3. Woche an ragten die Hoden hervor, wurden dicht und traten nicht mehr in die Bauchhöhle zurück. Wir können leider das pathologisch-anatomische Bild dieses Prozesses nicht beschreiben, da die Leiche eine Nacht im Thermostat gelegen hatte und daher stark zersetzt war. Bei keiner einzigen anderen Maus aber haben wir weder Orchitis noch Empfindlichkeit gegen Temperatur bemerkt, obwohl die die Hoden umgebende Fettfranse beim Sezieren fast immer etwas vergrößert und hyperämiert zu sein schien.

Gruppe B. Im ganzen handelte es sich um 7 Mäuse (s. Tab. Nr. II). Sie wurden mit reinen Kulturen des B. mallei von 3 verschiedenen Abstammungen infiziert: a) mit dem Stamm E., welcher vor 1 Jahre (Mai 1923) vom Kranken E—r[1]) isoliert wurde — 3 Mäuse (Nr. 1—3) —; b) mit dem Stamm Chw., welcher vor 5—7 Tagen vom Kranken Chw—ow[1]) entnommen wurde — 2 Mäuse (Nr. 4—5), und endlich c) mit der nicht der Ueberimpfung unterzogenen, eben aus dem Milzeiter der Maus Nr. 5, Gruppe A, isolierten Kultur — 2 Mäuse (Nr. 6 u. 7).

Hinsichtlich der Kultur E. ist zu bemerken, daß sie im Verlaufe eines Jahres auf gewöhnlichem Agar gezüchtet wurde und doch ihre Virulenz fast gänzlich bewahrt hat, wenigstens für Meerschweinchen: Dem Meerschweinchen (Männchen) Nr. 2 eingeführt ($^1/_{10}$ Oese 48stünd. Agarkultur), hat sie dieselbe rotztypische Erkrankung wie bei Nr. 1 ein Jahr vorher der Eiter ($^1/_{10}$ ccm) des Kranken E—r, von welchem diese Kultur isoliert worden ist, hervorgerufen; der Unterschied war nur der, daß Nr. 1 nach 13 Tagen krepierte (7. 5. — 20. 5. 1923), während Nr. 2 nach 27 Tagen (22. 5. — 17. 6. 1924) zugrunde ging. Die Erhaltung der Virulenz haben wir vielleicht dem von uns angewendeten Verfahren, die Nährböden nach Cache (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1905. H. 2) mittels $MgNH_4PO_4$ zu neutralisieren, zu verdanken.

Trotz der Verschiedenheit der Abstammung und des Alters der Stämme E. und Chw. waren die Impfungsergebnisse bei den mit ihnen angesteckten Mäusen Nr. 1—5 fast die gleichen: von 3 mit der Kultur E. angesteckten Mäusen (Nr. 1—3) krepierten nach 36—72 Std. nur 2; die 3. Maus, welche vollständig gesund aussah, haben wir

1) Genaueres über die Kranken E—r und Chw—ow siehe unsere Arbeit „Zur Frage nach d. diagnostischen Bedeutung usw." (s. dies. Band).

7 Monate später zur Ansteckung mit B. anthracis gebraucht, wobei beim Sezieren sowohl pathologisch-anatomisch wie bakteriologisch keine andere Infektion, als die des Milzbrandes, nachgewiesen wurde. — Von den 2 Mäusen (Nr. 4 u. 5), welche mit der Kultur Chw. infiziert waren, krepierte nur die eine (Nr. 4) nach 32 Std., die andere (Nr. 5) aber wies keine Krankheitssymptome auf und ging zufällig nur $3^1/_2$ Monate später zugrunde; leider wurde sie nicht seziert.

Tabelle II.

Maus Nr.	Abstammung des Virus	Dosis	Datum der Impfung	Ausgang der Ansteckung	Anmerkungen
1	Stamm Er., gewonnen vom Kranken Er-er 4. 5. 1923	$^1/_{10}$ Oese einer 24-stünd. Agarkultur	8. 5. 24	Eingegangen nach 72 Std.	Keine path.-anat. Veränderungen
2		$^1/_{12}$ Oese einer 24-stünd. Kartoffelkultur	14. 5. 24	Eingegangen nach 36 Std.	
3		$^1/_{30}$ Oese einer 48-stünd. Agarkultur	22. 5. 24	Gebraucht für d. Milzbrandinfekt. 1. 1. 1925	
4	Stamm Chw., gewonnen von Kr-en Chw-ow 23. 4. 1924	$^1/_{100}$ Oese einer 24-stünd. Agarkultur	28. 4. 24	Eingegangen nach 32 Std.	Keine path.-anat. Veränderungen
5		$^1/_{15}$ Oese einer 24-stünd. Agarkultur	30. 4. 24	Eingegangen zufällig 16. 8. 1924	
6	Aus dem Eiter der Milz der Maus Nr. 6 (Gruppe A), die am 13. 3. 1925 eingegangen ist	$^1/_{60}$ Oese einer 48-stünd. Kartoffelkultur	16. 3. 25	Eingegangen nach 14 Tagen	Die pathol.-anat. Veränderungen sind etwas denselben der Mäuse, Gruppe A, ähnlich
7				Eingegangen nach 30 Tagen	

Beim Sezieren der durch Rotz umgekommenen Mäuse Nr. 1, 2 u. 4 dieser Gruppe fanden wir gar keine Veränderungen in den Organen, und es gelang uns nur mittels Aussaat, aus ihnen eine Kultur des B. mallei zu züchten (Wachstum auf Nährböden und Agglutination).

Was die Mäuse Nr. 6 u. 7, welche mit dem 3. Stamm angesteckt waren, anbelangt, so war das Resultat der Infektion für beide tödlich, wobei die Dauer der Krankheit viel länger war: die eine (Nr. 6) krepierte nach 2 Wochen, die andere (Nr. 7) nach 1 Monate.

Interessant ist, daß alle Ansteckungsumstände bei diesen 2 Mäusen völlig gleich waren (s. Tab. Nr. II); also auch hier, wie bei den Mäusen Nr. 3 u. 4 der Gruppe A, muß der Unterschied der Krankheitsdauer durch Schwankungen rein individuellen Charakters erklärt werden.

Beim Sezieren dieser 2 Mäuse haben wir gefunden: bei der Maus Nr. 6 nicht verwachsene, mäßig vergrößerte Milz mit 2 Knötchen und außerdem einen kleinen Abszeß in der Bauchwand in der Gegend der linken Niere; bei der Maus Nr. 7 war die gleichfalls nicht verwachsene Milz bedeutend vergrößert, dicht, rosig-rötlich; ihre Oberfläche war mit zahlreichen kleinen Knötchen bestreut; sie besaß außerdem 2 kleine Abszesse; in den Lungen 1 und in der Leber nebst ihrem freien Rande 2 Rotzknötchen; endlich fand sich an der Injektionsstelle ein Abszeß von Erbsenkorngröße. In den Aussaaten aus den Organen (Herz, Leber und Milz) beider Mäuse wuchs eine reine Rotzkultur aus.

Aus allem Gesagten ist leicht zu ersehen, daß das Ansteckungsresultat bei den Mäusen Nr. 6 und 7 sich scharf von dem der Mäuse Nr. 1—5 unterscheidet, wobei es sich bedeutend dem nähert, was wir bei allen 6 der Gruppe A mit dem Eiter geimpften Mäusen beobachtet haben. Diese Erscheinung scheint keine zufällige zu sein und hängt wahrscheinlich von dem Umstande ab, daß diese (Nr. 6 u. 7) Mäuse

mit einer Kultur geimpft wurden, welche eben aus dem Milzeiter der Maus Nr. 6, Gruppe A isoliert und auf neue Nährböden nicht übergeimpft war. Die Kultur konnte also die freilich noch hypothetischen Eigentümlichkeiten des Eiters bewahren, durch welche die so scharfen Unterschiede in den Versuchsergebnissen der Serie A und B erklärt werden müssen.

II. Die weißen Mäuse sind ein vorzügliches Objekt für alle möglichen Versuche. Sie sind sehr fruchtbar, und ihre Unterhaltung kostet sehr wenig, weshalb man leicht für ein und denselben Versuch mehrere Mäuse brauchen kann. Ein tiefes, gut bedecktes Glasgefäß ist im allgemeinen und speziell beim Rotz ein sehr bequemer Isolator, und zwar um so mehr, als diese Krankheit bei ihnen augenscheinlich nie äußerlich verläuft. Eine angesteckte Maus kann ohne besondere Pflege, sogar ohne Reinigung, während 2—3 Wochen sich in demselben Gefäße befinden.

Die oben festgestellte Tatsache der großen Empfänglichkeit der weißen Mäuse für die Rotzinfektion, wenigstens bei der Ansteckung mit Rotzeiter, hat aber nur theoretisches Interesse, da die Infektionsdauer bei ihnen viel größer als bei den Katzen und Meerschweinchen ist. Nun haben wir uns die Frage vorgelegt, ob es möglich wäre, aus den Organen der mit rotzverdächtigem Eiter infizierten und kurz nachher getöteten Mäuse die Rotzkultur zu isolieren und, was das Hauptsächlichste ist, die typischen, pathologisch-anatomischen Veränderungen bei ihnen nachzuweisen.

Zu diesem Zwecke haben wir folgenden Versuch mit 5 Mäusen (Männchen) angestellt: Wir infizierten subkutan 2 Mäuse mit dem aus der Milz der Maus Nr. 5, Gruppe A frisch erhaltenen Eiter, und desgleichen 3 Mäuse mit dem Eiter der Maus Nr. 6 derselben Gruppe A.

In 8—21 Tagen nach der Ansteckung wurden sie getötet und seziert. Alle diese Mäuse sahen völlig gesund aus, sogar die am 21. Tage getötete; man konnte nur eine Vergrößerung des Bauches (große Milz!) bei den zuletzt getöteten bemerken.

Aus den Organen (Leber und Milz) der getöteten Tiere gelang es uns, eine reine Kultur des Rotzbazillus zu züchten (Aussaaten aus dem Herz aber blieben immer steril). Außerdem haben wir bei allen Mäusen folgendes pathologisch-anatomisches Bild konstatiert: Milz groß, bisweilen sogar sehr groß, dicht und nicht verwachsen; ihre Oberfläche war bei den am frühesten getöteten Tieren infolge der kaum hervorragenden grauen Knötchen weißlich und nicht glatt, bei den zuletzt getöteten aber war sie schon höckerig und sah bunt aus, da auf ihrem rosigen Grunde kleine Knötchen, bisweilen sogar Pusteln, klar hervortraten. In der Leber, hauptsächlich an ihrem freien Rande, befanden sich von 1—3 kaum bemerkbare gräuliche, nicht über die Oberfläche hervorragende Knötchen; die inguinalen Lymphdrüsen auf der Injektionsseite waren in einigen Fällen vergrößert und bei der zuletzt getöteten Maus sogar vereitert. In den meisten Fällen fand sich auf der Injektionsstelle unter der Haut der Eiter, wobei die Haut mit den darunterliegenden Geweben verwachsen war; in der Bauchwand endlich auf der Rückenseite in der Gegend der Milz und der linken Niere war je ein kleiner Abszeß. Die Entstehung dieser Abszesse sind wir geneigt, eher der Verbreitung der Infektion per continguitatem von der Milz aus zuzuschreiben, als sie mit dem Umstande, daß die Infektion

an der linken Seite in der Lendengegend ausgeführt wurde, in Zusammenhang zu bringen.

Das pathologisch-anatomische Bild sämtlicher Mäuse dieser Serie war somit im allgemeinen dem ähnlich, welches wir bei den Mäusen der Serie A gefunden haben, weswegen wir auf die Frage nach dem diagnostischen Werte der Versuche über den Rotzeiter bei den weißen Mäusen eine bejahende Antwort geben können.

Schlüsse.

1) Die weißen Mäuse sind für die Rotzinfektion durchaus empfänglich: die letztere hat bei ihnen aus unbekanntem Grunde verschiedenen Verlauf, je nachdem sie mit einer Reinkultur des Rotzbazillus oder mit Rotzeiter infiziert werden. — 2) Die mit der reinen, wenn auch kurz vorher isolierten Kultur infizierten weißen Mäuse gehen zugrunde nur in einem Teile der Fälle bei sehr akutem Infektionsverlauf in 30—72 Std. und bei völliger Abwesenheit irgendwelcher Aenderungen in den Organen. — 3) Die mit Rotzeiter (wenigstens wenn er keine anderen Mikroorganismen enthält) geimpften weißen Mäuse gehen alle bei verhältnismäßig chronischem Infektionsverlauf (5 bis 6 Wochen) ein und zeigen dabei ein sehr typisches pathologisch-anatomisches Bild. — 4) Indem man die mit dem rotzverdächtigen Eiter infizierten weißen Mäuse am 10.—13. Tage tötet, kann man zu praktischen Zwecken verhältnismäßig früh auf Grund der Aussaat und des pathologisch-anatomischen Bildes die Rotzdiagnose mit Zuverlässigkeit stellen oder abweisen.

Wir halten es für eine angenehme Pflicht, hier Herrn Professor A. Wladimirow für seine wertvollen Literaturangaben unseren besten Dank auszusprechen.

Beitrag zur Spirochätenforschung. Beobachtungen an Mundspirochäten.

[Aus dem Laboratorium der Städtischen Krankenanstalten Remscheid.]

Von **Elisabeth Geistfeld.**

Mit 30 Abbildungen im Text.

Gelegentlich umfangreicher Untersuchungen, die ich an Mundspirochäten zu machen Gelegenheit hatte, machte ich ein interessante Beobachtung, die vielleicht ein wenig zur Klärung der noch so viel umstrittenen Biologie der Spirochäten beizutragen imstande sein dürfte.

Mein Untersuchungsmaterial waren Zahnbelag aus ungepflegten Mündern, sowie Alveolarsekrete aus sehr zahlreichen Fällen von Gingi-

vitis, Alveolarpyorrhöe und Stomatitis ulcerosa bzw. mercurialis. In allen diesen Fällen findet man konstant eine große Anzahl von Spirochäten. Auf eine Differenzierung dieser Spirochätenarten und ihre eventuelle pathologische Bedeutung soll hier nicht näher eingegangen werden. Von verschiedenen Autoren sind 3 Arten festgelegt worden: Spir. buccalis, Spir. media, Spir. dentium, 3 Typen, die sich immerhin mikroskopisch mit einiger Sicherheit voneinander abgrenzen lassen.

Im Burrischen Tuschepräparat, das ich vorzugsweise für meine Untersuchungen benutzte, machte ich zum ersten Male die Beobachtung, daß den Spirochäten sehr häufig ein Stäbchen, manchmal leicht gekrümmt, manchmal gerade, meist in einem mehr oder weniger spitzen Winkel anlag. Ich legte anfangs den Beobachtungen keinen Wert bei, da ich diese Anlagerung für ein Kunstprodukt hielt. Erst die große Häufigkeit dieser „Zufallsprodukte“ veranlaßte mich, Beobachtungen an lebendem Material im Dunkelfeld und im vitalgefärbten Präparat zu machen.

Im Dunkelfeld fand ich zwar zahlreiche Spirochäten mit anhängenden kleineren oder größeren Stäbchen, doch waren die Stäbchen so auffallend wenig lichtbrechend — erheblich weniger noch, als die auch schon einen geringen Brechungsindex aufweisenden Spirochäten — daß die Beobachtung dadurch ziemlich erschwert wurde.

Ich bediente mich daher in der Folge vorzugsweise der von Manson angegebenen vitalen Färbungsmethode. Auf mit Alkohol und Aether gut gereinigten Objektträgern wurde ein Tropfen Boraxmethylenblaulösung in dünner Schicht ausgebreitet und angetrocknet. Auf ebenfalls sorgfältig gereinigte Deckgläschen wurde etwas Sekretmaterial aus der Tiefe einer Zahnfleischtasche stammend, entweder unverdünnt gebracht oder in einem Tropfen Speichel verrührt und sodann das Deckgläschen mit der beschickten Seite nach unten auf die Farbschicht gelegt. Das Deckgläschen wurde sofort durch Umranden mit Deckglaskitt gut luftdicht abgeschlossen. In der Regel findet man in diesen Präparaten zahlreiche der sofort blauviolett gefärbten Spirochäten in guter Beweglichkeit erhalten.

Auch in diesen Vitalpräparaten fand ich die Erscheinung des der Spirochäte anhängenden, häufig leicht gekrümmten Stäbchens sehr häufig. Das Stäbchen saß teils direkt, teils mit einem kleinen stielartigen Fortsatz versehen, der Spirochäte an und drehte sich bei Rotationsbewegungen der Spirochäte fortwährend um die Spirochätenachse herum, in der Regel, ohne seinen Neigungswinkel zur Achse zu verändern.

Die Figuren 1—5, 8, 11, 13, 16, 17, 19—27 geben einige dieser Bewegungsphasen wieder. Fig. 10b zeigt, wie das Stäbchen, das die schnelle Rotation der Spirochäte mitmacht, bei senkrechter Projektion als ein neben der Spirochäte liegendes Körnchen erscheint. Ein besonders schön bewegliches Exemplar, das fast 1 Std. lang beweglich beobachtet werden konnte, war die Spirochäte der Fig. 5, die äußerst schnell und dauernd rotierte. Das Stäbchen erschien an einem längeren Stiel hängend und veränderte bei den Rotationen den Neigungswinkel zur Spirochätenachse durch mehr oder weniger starke Krümmung des Stieles dauernd um ein geringes. Alle diese Gebilde wurden mindestens $^1/_2$ Std. lang bei guter Beweglichkeit beobachtet, ohne daß jemals eine Loslösung des Stäbchens wahrgenommen werden konnte.

Die Spirochätenstäbchen-Gemeinschaft Fig. 8 a und b war anfangs wenig beweglich. Nach starkem Klopfen auf den Objektträger trennte sich das Stäbchen von der Spirochäte, blieb in geringer Entfernung liegen, drehte sich aber bei nun einsetzender Rotations- und Fortbewegung der Spirochäte wie an einem unsichtbaren Stiel dauernd um die Spirochätenachse (8 b). Eine starke Aenderung des Neigungswinkels zur Spirochäte fand ich nur bei Stäbchen 7 a und b, das bei Drehungen hoch- und wieder nach unten klappte. Auch erschien hier das Stäbchen nicht mit einem Ende an die Spirochäte angeheftet, sondern lag ihr ungefähr im äußeren Viertel der konvexen Seite an.

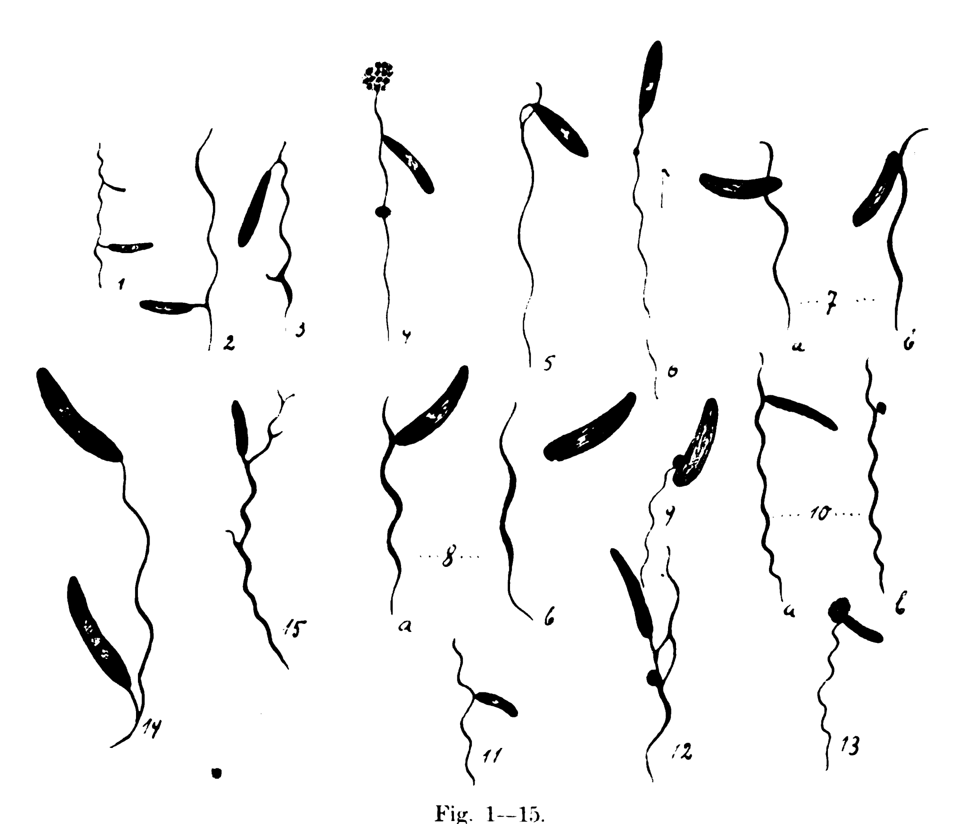


Fig. 1—15.

Bisweilen fand ich das Stäbchen an einem Pol der Spirochäte angeheftet; man hatte dann den Eindruck eines eine lange, starke Geißel schleppenden rotierenden Stäbchens (Fig. 6). Wie ersichtlich, trägt hier die Spirochäte kurz vor ihrer Vereinigung mit dem Stäbchen eine knötchenartige Verdickung. Bei starkem Klopfen auf den Objektträger löste sich plötzlich das Stäbchen an der Stelle der Verdickung ab, das Knötchen an der Spirochäte zurücklassend. Die Spirochäte blieb noch kurze Zeit beweglich, das Stäbchen zeigte keine Bewegung. Verschiedentlich fand ich auch 2 und 3 Stäbchen an eine Spirochätenform angeheftet; die Beweglichkeit dieser Gebilde (Fig. 14 und 18) war gering.

Ein wieder anderes Bild boten die Spirochätenstäbchen-Gemeinschaften, die in Fig. 9 und 12 dargestellt sind. Das Stäbchen Fig. 9 zeigte an der Konkavseite ein großes, stark dunkelblau gefärbtes Körnchen, das größtenteils außerhalb der Stäbchenkontur lag. An dieses Körnchen war eine Spirochäte angeheftet, die in der Bewegung gehemmt schien und das plumpe Stäbchen einige Male langsam mit herumdrehte. Bei Fig. 12 erschien die Spirochäte an der Stelle der Stäbchenanheftung geteilt, ein stark blaugefärbtes Körnchen lag unterhalb des Stäbchenstieles; das ganze Gebilde zeigte keine Bewegung.

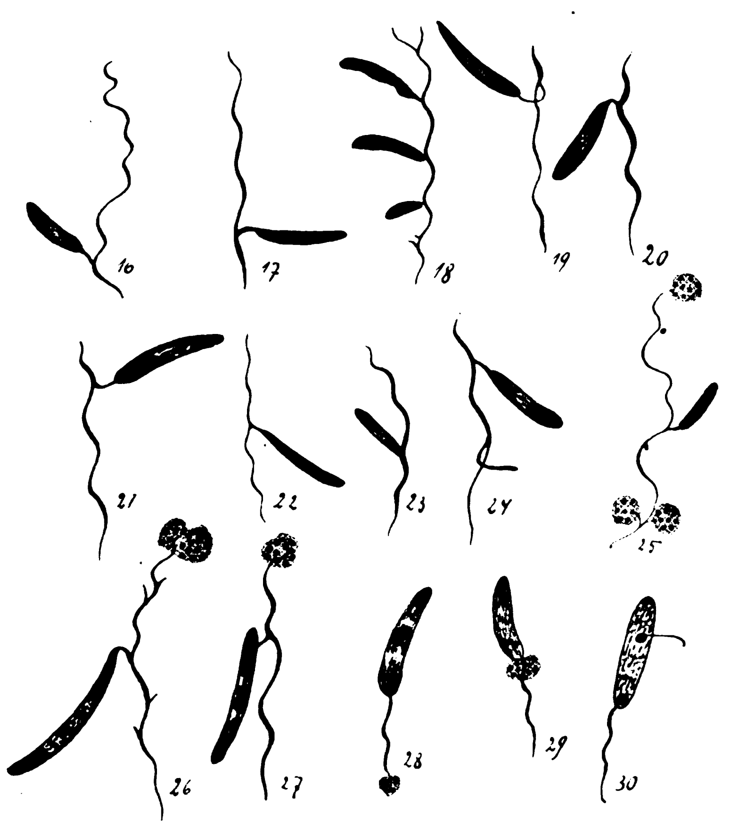


Fig. 16—30.

Ein wieder ganz anderes Bild boten zahlreiche Exemplare, von denen Fig 28—30 einige wiedergeben, Stäbchen, denen an einem Pol ein spirochätenartiger Fortsatz angeheftet schien, dem wiederum oft mehrere stark dunkelblau gefärbte Körnchen angeheftet waren. Die Beweglichkeit dieser Gebilde war gering; es wurden einige träge Rotationen beobachtet, die aber bald sistierten. Fig. 30 zeigt ein Stäbchen, das 2 auffallend stark gefärbte Körnchen, eines an einem Polende, eines mehr zentral gelegen, aufwies. An das polwärts gelegene Körnchen fand sich eine Spirochäte angeheftet, von dem anderen Körnchen aus trat ein leicht gekrümmter Fortsatz von fast Spirochätenstärke aus dem Kontur des Stäbchens heraus.

Diese stark blaugefärbten Körnchen, die im Dunkelfeld sehr stark lichtbrechend waren, fand ich an den beobachteten Mundspirochäten außerordentlich häufig, oft endständig stehend, manchmal seitlich, oft auch an beiden Seiten dem Spirochätenleibe angeheftet. Sie sind bereits des öfteren von Hübner, Uhlenhuth, Reiter, Meirowsky und den Japanern Juada und Ido an den Spirochäten der Weilschen Krankheit und an Kulturspirochäten beschrieben worden. Sehr häufig fand ich zahlreiche dieser Körnchen beisammen stehend; sie waren dann umgeben von einer zartlila gefärbten, schleierartigen Hülle, so daß das Ganze fast blumenartig wirkte (Fig. 4, 25, 26, 27, 29). Meirowsky, der diese Gebilde, „Dolden", an Kultur- und Gewebsspirochäten eingehend studiert und beschrieben hat, faßt sie auf als Phasen im Entwicklungskreislauf der Spirochäten.

Die Frage, wie weit die Stäbchen, die ich den Spirochäten angelagert fand, identisch sind mit dem Bacillus fusiformis, muß ich offen lassen. In der Regel sind sie kleiner als der Bacillus fusiformis, doch spricht ihre ungleichmäßige Färbbarkeit im Methylenblau-Vitalpräparat für Identität. Auffallend ist allerdings die meist sehr schwache Lichtbrechung im Dunkelfeld im Gegensatz zu den gut lichtbrechenden freiliegenden fusiformen Stäbchen.

Daß Spirochäten und fusiforme Stäbchen eventuell verschiedene Entwicklungsformen des gleichen Organismus darstellen könnten, ist schon verschiedentlich angegeben worden. So sah R. Tunnicliff in Kulturen von Bac. fusiformis für kurze Zeit Spirochätenformen auftreten, die bald wieder verschwanden. Aehnlich berichten Beitzke, Létulle, Silberschmidt, Sobel, Hermann, die die mannigfachsten Uebergangsformen beschreiben. Mühlens glaubt dagegen, durch Züchtungsversuche an Spirochaeta dentium und an fusiformen Stäbchen den Beweis erbracht zu haben, daß es sich um 2 verschiedene Organismen handle. Da mir momentan kaum Literatur zur Verfügung steht, kann ich leider in diese Arbeiten keine Einsicht nehmen.

Ueber die Frage, welche Stellung der Bac. fusiformis in einem eventuellen Entwicklungskreislauf der Spirochäte einnehmen könnte, kann ich mir nach meinen, wenn auch sehr zahlreichen, so doch immerhin nur an Mundspirochäten und unter beschränkten Verhältnissen ausgeführten Beobachtungen natürlich kein bestimmtes Urteil erlauben, besonders auch, da ich momentan nicht in der Lage bin, meine Befunde an Spirochäten in Reinkulturen nachprüfen zu können. Diese Mitteilung soll nur dazu dienen, auf meine immerhin auffallenden Beobachtungen aufmerksam zu machen und eventuell zu Studien an anderem Spirochätenmaterial in dieser Richtung anzuregen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Morphologie und Biologie des Galt-Streptokokkus, des Erregers der Mastitis katarrhalis-streptococcica des Rindes.

[Aus der Lehrkanzel für Bakteriologie und Hygiene der Tierärztlichen Hochschule in Wien (Vorstand: Professor Dr. Schnürer).]

Von Tierarzt Dr. **Johann Rudolf,**
Leiter der Tierärztlichen Beratungsstelle-Wien.

Bei den von der Tierärztlichen Beratungsstelle seit 1 Jahre im Gange befindlichen Untersuchungen über die Verbreitung der Mastitiden unter den Milchviehbeständen des Landes Nieder-Oesterreich und des angrenzendes Teiles vom Burgenlande konnte festgestellt werden, daß unter den Euterentzündungen der Rinder in den genannten Gebieten die durch Streptokokken hervorgerufenen Mastitiden weitaus am häufigsten vorkommen und daß durch dieselben ganz bedeutende wirtschaftliche Schäden verursacht werden.

Die ungeheure Verbreitung der Streptokokken in der Natur läßt es begreiflich erscheinen, daß eine große Zahl namhafter Bakteriologen sich mit dem Streptokokkenproblem befaßt hat, ohne daß trotz Zuhilfenahme der modernsten Untersuchungstechnik und -Methoden, die wichtigste Frage mit Sicherheit hätte eine Klärung erfahren können, ob der zur Untersuchung vorliegende Streptokokkenstamm durch den Laboratoriumsversuch als pathogen oder apathogen zu bezeichnen sei.

Wie allgemein bekannt ist, kann man in der zum Konsum bestimmten Milch häufig Streptokokken nachweisen. Von diesen Streptokokken haben natürlich für den mit der amtlichen Milchkontrolle betrauten Untersucher in erster Linie jene ein besonderes Interesse, die von euterkranken Kühen stammen, da es heute erwiesen zu sein scheint, daß durch den Genuß von galtstreptokokkenhaltiger Milch tatsächlich Erkrankungen beim Menschen hervorgerufen werden können. Solche Erkrankungsfälle wurden von Holst (1), Jakobsen (2), Weigmann und Th. Gruber (3), W. I. F. Lameris und H. G. Harrevelt (4) und Ernst (5) beschrieben, wobei in jedem Falle nachgewiesen werden konnte, daß die genossene Milch tatsächlich von Kühen mit Mastitis streptococcica stammte, und daß nach Ausschaltung dieser Milch vom Konsum die Erkrankungsfälle aufhörten.

Da ich nun einerseits Gelegenheit habe, Sekretproben von euterkranken Kühen selbst zu entnehmen und mir reichlich Untersuchungsmaterial von den praktischen Tierärzten eingesendet wird und andererseits systematische Untersuchungen über das Verhalten der Galtstreptokokken gegen hochwertige Alkohole, verschiedene Zuckerarten und auf der Blutagarplatte nach Schottmüller in der mir zugängigen Literatur widersprechende Ergebnisse geliefert haben, entschloß ich mich, Untersuchungen besonders in dieser Richtung mit frisch gewonnenen Kulturen des Streptococcus mastitidis anzustellen, da es von großem Wert für die Milchbakteriologie wäre, wenn die Galtstrepto-

kokken durch Laboratoriumsuntersuchung als solche mit Sicherheit erkannt werden könnten.

Ehe ich auf die eigenen Untersuchungen eingehe, möchte ich die in der Literatur niedergelegten Forschungsergebnisse über den Galtstreptokokkus kurz zusammenfassen. Gröning (6) hat 1891 vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens angestellt, wozu er 15 Stäme aus erkrankten Eutern und 8 bzw. 7 Stämme aus dem Rinderdarme, bzw. aus der Stalljauche verwendete. Er prüfte das Wachstum in schwach alkalischer Bouillon, im Agarstich, Gelatineplatte- und -Stich, auf Kartoffel, in Milch und unter anaëroben Wachstumsverhältnissen; zu den Morphologiestudien verwendete er Bouillonkulturen. Kulturell konnte er zwischen den 3 Streptokokkenarten des Galtes, wie sie Zschokke angibt, kein durchgreifendes Unterscheidungsmerkmal feststellen. Die Streptokokken des infektiösen und des sporadischen Galtes konnten als 2 verschiedene Arten nicht erkannt werden. Ein Drittel der aus den Eutersekreten isolierten Streptokokkenreinkulturen tötete weiße Mäuse nach subkutaner Impfung von 1 ccm einer in Rinderserum gewonnenen Kultur. Von den Rinderdarm- und Stallbodenstreptokokken war nur 1 Darmstreptokokkenstamm für Mäuse pathogen. Gelatine verflüssigte ein Galtstamm, während von 8 Stämmen aus dem Rinderdarme 3 auf Gelatine die gleiche Eigenschaft besaßen. Von den 15 Kulturstämmen aus den kranken Eutern waren 11 säurebildend und brachten die Milch zur Gerinnung, während kein einziger Darm- oder Stallbodenstreptokokkus diese Eigenschaft hatte. Auf Kartoffel fand gewöhnlich kein Wachstum statt.

Stähli (7), der die Biologie des Streptococcus mastitidis contag. studierte, konnte ebenfalls feststellen, daß die 3 verschiedenen Streptokokkenformen Zschokkes keine sie charakterisierende biologischen Verschiedenheiten aufweisen; sie sind nach den äußeren Einflüssen so variabel, daß weder die Länge der Ketten noch die Größe der Glieder einer Artbestimmung zugrunde gelegt werden kann. Die Kulturversuche auf Kartoffel waren negativ. Schlechtes Wachstum zeigten die Streptokokken auf Pleuritisexsudat, Blutserum, Echinokokkenflüssigkeit und eiweißfreien Nährböden. Die Milch wurde in allen Fällen zur Gerinnung gebracht. Gutes Wachstum war auf Agarplatte- und -stich, Bouillon und in Blutserum zu sehen. Von 40 mit $^1/_2$—1 ccm 24 Std. alter Bouillonkultur geimpften Mäusen gingen 9 zugrunde; davon hatten 5 anaërobe Kulturen erhalten.

Kitt (8) sagt, daß es fraglich sei, ob die kurzen und langen Streptokokken wirklich verschiedene Arten seien, da sie biologisch wenig voneinander abweichen und, da es auch Mittelformen gibt, müßte man ebensoviele Varietäten als es Krankheitsfälle gibt, unterscheiden.

Hammerschmidt (9), der in einem ausgezeichneten Sammelbericht den gegenwärtigen Stand der Forschung über die Milchbakteriologie bis zum Jahre 1922 referierte, kommt ebenfalls zu dem Schlusse, daß es bis heute unentschieden sei, ob es verschiedene Arten von Mastitisstreptokokken gibt. Nach Salus (10) sind auch verschiedene Stämme dieser Streptokokken tierpathogen; somit fällt auch dieses Differenzierungsmittel weg. Auch die Frage der Unterscheidungsmöglichkeit des Strept. mastitidis, von dem in jeder Milch mitenthaltenden Streptococcus acidi lactici konnte bis heute mit Hilfe kultureller Eigenschaften, wie des Besitzes einer Kapsel, der Kettenlänge, des Vermögens Milch zu koagulieren etc. nicht gelöst werden. Das hämolytische Vermögen und das Verhalten zu verschiedenen Zuckerarten schien anfangs für die Differenzierung von Milchsäurestreptokokken mit Mastitisstreptokokken einen größeren Wert zu haben. Nach Ruediger (11), Hachtel (12) sollen die ersteren auf der Blutplatte grünliche Kolonien oder eine nur geringe hämolytische Zone zeigen, während die pyogenen Arten deutliche Hämolyse erzeugen. Die Hämolyse wird aber von vielen Untersuchern abgelehnt, wie Saito (13), Stowell, Hilliard und Schlesinger (14), Gminder (15), Frost und Bachmann (16), weil es unter den pathogenen Mastitisstreptokokken viele nicht hämolysierende Stämme gäbe. So konnte Jones (17) aus 61 Fällen von Mastititis 21 hämolysierende und 40 nicht hämolysierende Streptokokkenstämme züchten, welch letztere bei den Kühen ebenfalls mehr oder weniger heftige Euterentzündungen hervorgerufen hatten. Frost und Bachmann (16) fanden bei zahlreichen Untersuchungen der Milch gesunder Kühe, die unter besonders günstigen Stallverhältnissen gehalten wurden, in 28 Proz. hämolytische Streptokokken; Davis (18) fand sie in 26 Proz. der untersuchten Milchproben, so daß diesem Unterscheidungsmerkmal keine Bedeutung beigemessen werden kann.

Bezüglich der Vergärungsverhältnisse für verschiedene Zuckerarten sind die Ergebnisse ebenfalls sehr verschieden; Burri (19), Jones (17), Salter (20)

sind der Ansicht, daß Saccharose zu vergären nur den pathogenen und nicht den Milchsäurestreptokokken zukommt. Nach den Untersuchungen Burris besteht zwischen dem Strept. acidi lactici und dem Mastitisstreptokokkus eine enge Verwandtschaft. Gminder (15) konnte durch Injektion von saprophytischen Streptokokken in das Euter der Ziege eine echte Streptokokkenmastitis erzeugen. Kollenz (21), der 79 tierische Streptokokkenstämme verschiedener Herkunft untersuchte, fand bei den 4 mit im Versuch befindlichen Galtstreptokokkenstämmen übereinstimmend Gerinnung der Milch unter starker Säurebildung und keine Hämolyse auf der Blutplatte. Keine Säure bildeten seine Mastitisstämme in Rhamnose, Mannit, Dulzit und Sorbit. Hoessli (22), Ricke (23), Nencki (24), Zschokke (25), Heinemann (26) und Kaiser (27) wiesen bei den meisten Mastitisstreptokokken Säurebildung und Milchgerinnung nach. Sven Wall (28) konnte bei seinen Mastitisstreptokokkenstämmen nur geringe Säurebildung und keine Milchkoagulation konstatieren. Baumann (29) züchtete aus Marktmilch 13 Stämme von Streptokokken heraus, von welchen 4 einen deutlichen hämolytischen Hof auf der Blutplatte zeigten. Laabs (30), der bei seinen Versuchen 3 Drusestreptokokkenstämme mit zum Vergleich herangezogen hatte, fand bei den Mastitisstämmen durchgehend keine Hämolyse. Müller (31) konnte keinen durchgreifenden Unterschied bei den in der Milch vorkommenden Streptokokken herausfinden, da sich nach ihm die Säurebildung künstlich mindern und steigern läßt.

Ernst (5), der wohl die umfangreichsten Untersuchungen über die Galtstreptokokken und die Diagnose der durch sie verursachten Mastitiden aus Einzel- und Marktmilchproben angestellt hat, und sicher über eine große praktische Erfahrung auf dem Gebiete der Milchbakteriologie verfügt, kommt zu dem Schlusse, daß die verschiedenen biologischen, chemischen und physikalischen Methoden zur Erkennung von galtstreptokokkenhaltiger Milch nicht geeignet sind. Er hält die morphologischen Eigenschaften der Streptokokken im Milchsediment für konstant genug, um im positiven Falle mit absoluter Sicherheit sagen zu können, ob der Streptokokkus aus einem infizierten Euter stammt. Der Mastitisstreptokokkus hat nach Ernst diplokokkenartige Teilglieder; die Kokken drücken sich scheinbar, werden scheibenförmig und sehen im Profil strichähnlich aus (Staketenform). Manchmal sah er auch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte feine Hülle um dieselben, die gelegentlich zu einem breiten Schleimwall verquillt. Der Endkokkus ist besonders bei kurzen Ketten kugelig oder kolbig angeschwollen. Er meint, daß es auch bei geringer Uebung gelingt, aus den angegebenen Merkmalen die Galtstreptokokken von nachträglich in der Milch gewachsenen zu unterscheiden. Gminder (15) wendet sich gegen Ernst, indem er nach seinen Untersuchungen behauptet, eine Trennung von pathogenen und saprophytischen Streptokokken sei morphologisch nicht möglich. Der bakterioskope Befund allein genüge nur dann, wenn die Milch steril entnomen würde; in den anderen Fällen verlangt er die Heranziehung der kulturellen Untersuchung, wobei er aber zugibt, daß die Mastitisstreptokokken immer eine mehr oder minder starke Abplattung der Glieder, die stets diplokokkenartig angeordnet sind, besitzen. Gleiche Eigenschaften konnte er bei den saprophytischen Formen äußerst selten beobachten.

Wie nun tatsächlich aus der reichlichen Milchstreptokokkenliteratur hervorgeht, ist es bis jetzt nicht möglich, die pathologischen Streptokokken der Milch von den saprophytischen durch ihre kulturellen und biologischen Eigenschaften mit Sicherheit zu unterscheiden. Die widersprechenden Befunde veranlaßten mich, wie ich schon eingangs erwähnte, Versuche in dieser Richtung anzustellen und gleichzeitig zu prüfen, ob die morphologischen Eigenschaften die Erkennung der Galtstreptokokken gestatten.

Eigene Versuche.

Da die Streptokokken bei längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden mit der Zeit sicher Aenderungen ihrer Lebenseigenschaften zeigen, die ihre Ursache in äußeren Einflüssen wie: Alkaligehalt der Nährböden, Dichte der Aussaat etc. haben, glaube ich gleich Gminder, daß diese Momente von den Forschern zu wenig berücksichtigt wurden, was auch der Grund mancher sich widersprechender Befunde sein mag.

Um diese Umstände auszuschalten, achtete ich ganz besonders bei meinen Versuchen darauf, daß die Nährböden stets die gleiche Beschaffenheit hatten, verarbeitete die Kulturen sofort nach gelungener Reinkultur und züchtete stets unter gleichen Brutschrankverhältnissen.

Die Zahl der von mir untersuchten Mastitisstreptokokkenstämme beträgt 37; zum Vergleich wurden noch 2 Drusestämme mit in den Versuch genommen. Von diesen Stämmen gelangten 23, 1mal, 4, 2mal, und 2, 3mal zur Untersuchung, wobei bemerkt sei, daß es sich bei den mehrmals geprüften Stämmen nicht um die gleiche Ausgangskultur handelt, sondern daß diese Stämme von dem gleichen Krankheitsfall nach Ablauf verschiedener Zeitabschnitte gewonnen wurden. Stamm G 4 und G 5 sind aus Beständen, in welchen nur ein Fall als sogenannter „sporadischer Galt“ auftrat, während die übrigen Stämme sämtlich aus Stallungen von seuchenhaften, große wirtschaftliche Schäden verursachenden Streptokokkenmastitiden gezüchtet wurden. Stamm G 1 wurde aus einem Milchsekret kultiviert, das aus einem Stalle herrührte, in welchem in 8 Tagen 20 Kühe erkrankten, G 2 und G 3 sind aus einem Stalle, in welchem in 14 Tagen 7 Kühe von Mastitis ergriffen wurden; die restlichen 32 Stämme gewann ich aus einem Rinderbestande, wo 45 Kühe innerhalb 3 Monaten an dieser Mastitis erkrankten.

Bemerkt sei noch, daß ich nur solche Galtstreptokokkenstämme zu meinen Versuchen benützte, die aus Milchproben stammten, welche einige Stunden vorher unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln für sterile Milchprobenentnahme gewonnen worden waren und bei welchen aus dem Zentrifugalbodensatz eine Reinkultur von Streptokokken auf der gewöhnlichen Agarplatte aufging, um mit größter Wahrscheinlichkeit andere Streptokokken, die sekundär in die Milch hineingelangt sein könnten, auszuschließen. Ferner hatte ich auch Gelegenheit, die klinischen Befunde an Ort und Stelle persönlich zu erheben, deren Veröffentlichung ich mir im Rahmen einer anderen Arbeit vorbehalte.

Untersuchungsgang.

Die Milchproben wurden nach dem Einlangen ins Laboratorium sofort in ein steriles Zentrifugierröhrchen abgegossen, zentrifugiert und aus dem Bodensatz 2 Ausstriche zwecks Anfertigung eines Gram- und Methylenblaupräparates gemacht; ferner wurde eine Plattenkultur auf Agar ohne Zusatz angelegt. Ging eine Reinkultur von Streptokokken auf der Platte an, so wurde ein Pferdefleischbouillonröhrchen mit dieser Reinkultur beimpft, und, falls sich auch in der Bouillonkultur die Streptokokken in Reinkultur nachweisen ließen, wurden dann mit dieser Kultur sämtliche übrigen Kulturen und Differenzierungsversuche durchgeführt.

Meine Untersuchungen erstreckten sich auf die morphologischen Eigenschaften der Streptokokken aus dem Nativausstrich (Sediment), aus der Bouillonkultur und auf das Aussehen der Kulturen auf der gewöhnlichen Agarplatte. Ferner wurde das Verhalten auf Traubenzuckeragar 1proz. (Platte und Stich) Drigalski, Endo, in Milch, Gelatine-Stich und auf der Rinderblutplatte geprüft. Zur Feststellung der Säurebildung wurden verwendet: Milchzucker, Traubenzucker, Lävulose, Glykose, Dulzit, Sorbit, Galaktose, Isodulzit, Adonit, Mannit und Rhamnose, als 1proz. Lösung in gewöhnlicher Pferdefleischbouillon. Pathogenitätsprüfungen wurden nur an weißen Mäusen vorgenommen.

Ergebnis der morphologischen Untersuchungen.

Zu den Morphologiestudien hat sich nach meiner Erfahrung die einfache Färbung mit alkoholischer und wässeriger Methylenblaulösung gut bewährt. Es konnte bei dieser Färbungsmethode, wie aus den Tabellen I und II hervorgeht, in allen Fällen die von Ernst für Galtstreptokokken typische Staketenform festgestellt werden. Die einzelnen Teilglieder zeigten eine diplokokkenartige Lagerung, wobei es den Anschein hat, als wenn die Kokken in der Längsachse zusammengedrückt würden, wodurch ein strichähnliches Profil zustandekommt. Bei kurzen Ketten ist der Endkokkus mehr rund oder auch kolbig aufgequollen. Eine Schleimhülle, wie sie nach Ernst auch manchmal bei den Galtstreptokokken vorkommen soll, konnte ich bei aus den Sedimentausstrichen gewonnenen Präparaten nie sehen. Aus Bouillonkulturen hatte ich bei einigen Stämmen Gelegenheit, das Vorhandensein dieser Schleimhüllen bestätigt zu sehen. Einen weiteren Anhaltspunkt dafür, daß die im Ausstrich vorliegenden Streptokokken tatsächlich aus einem kranken Euter stammen, fand ich im Nachweis der Leukozyten im Zentrifugalbodensatz, wobei mir wohlbekannt ist, daß auch in Milch, die nicht von euterkranken Kühen stammt, gelegentlich Eiterkörperchen vorkommen können. Der Nachweis von Leukozyten wird nach meiner Erfahrung in jenen Fällen für die Identifizierung der Milchstreptokokken von Wert sein, wenn der Untersucher im Zweifel ist, ob die gefundenen Ketten tatsächlich als Galtstreptokokken angesprochen werden sollen. Die Korngröße schwankt sowohl bei den einzelnen Stämmen als auch innerhalb eines Stammes. Die Länge der Ketten, welche selbst bei dem gleichen Krankheitsfalle Schwankungen unterworfen ist, kann zur Klassifizierung in Streptokokken des sporadischen und infektiösen Galtes, wie sie von Zschokke vorgeschlagen wurde, nicht verwendet werden. Ganz besonders möchte ich hervorheben, daß bei der Gram-Färbung die von Ernst angegebenen Merkmale des Galtstreptokokkus nicht immer deutlich zur Darstellung gebracht werden können; besonders die Staketenform erscheint bei dieser Färbemethode nicht immer deutlich. Gminder fand die Galtstreptokokken nicht ausgesprochen grampositiv. Meine Stämme zeigten in allen Fällen ein ausgesprochenes grampositives Verhalten.

Bei zahlreichen Streptokokkenstämmen, die ich aus Kot, Harn, Druseeiter, Lungenschleim von Rind und Schwein und Pyometra vom Rind auf ihr morphologisches Verhalten prüfte, konnte ich die für Galtstreptokokken charakteristischen Merkmale nicht finden.

Wachstum auf Agar ohne Zusatz.

Sämtliche Stämme zeigten nach 24stünd. Brutschrankaufenthalt ein gutes Wachstum von kleinen bis stecknadelkopfgroßen Kolonien, die ich in 2 Gruppen unterbringen konnte. Waren lange Ketten im Nativausstrich vorhanden gewesen, so wuchsen mehr bläulichweiße durchscheinende Kolonien mit unscharfem, flockigem Rande; die kurzen Ketten ergaben etwas erhabene, manchmal ins Grauweiße übergehende Kolonien mit scharfem Rand. Im Ausstrich aus den Agarkulturen konnten selten Ketten mit mehr als 6—8 Gliedern festgestellt werden; meist wuchsen sie als Diplokokken, die im Ausstrich nicht als Galtstreptokokken zu erkennen waren. Ein Wachstumsunterschied zwischen

Ta

Einmal unter

Kultur Nr.	Ausstrich aus Milchbodensatz	Kultur auf Agarplatte ohne Zusatz	Pferdefleischbouillonkultur
G 1	Sehr lange Ketten, Glieder typisch, Leukozyten reichlich	Reinkultur, Kolonien einen aufgeflockten Rand	Lange Ketten, klar mit leichtzügigem Bodensatz
G 2	Ketten meistens 4—6 Glieder, vereinzelte bis 10 Glieder, diplokokkenartig, sonst typisch. Leukozyten ziemlich zahlreich	Reinkultur, Kolonien glattrandig	Ketten länger als in Milchbodensatz. Gleichmäßige Trübung mit geringem Bodensatz
G 3	dgl.	dgl.	Kurze und lange Ketten, klar mit Bodensatz
G 4	Sehr lange Ketten, Glieder typisch, Eiterkörperchen reichlich	Reinkultur von durchscheinenden Kolonien mit aufgeflockten Rand	Sehr lange Ketten, klar, zügiger Bodensatz
G 5	Hauptsächlich Diplokokkenformen, wenige mit 4 Gliedern, diese typisch	Reinkultur von mehr weißlichen Kolonien, glattrandig	Zu Ketten bis 10 Glieder angewachsen
G 6	Kurze Ketten, bis 8 Glieder, typisch, Leukozyten	Reinkultur, glattrandige Kolonien	Zu langen Ketten ausgewachsen, klar
G 7	Mittellange Ketten, typisch, reichlich Leukozyten	Wie G_6 neben einigen Kolonien mit unscharfem Rand	Ketten länger, klar mit flockigem Bodensatz
G 8	Sehr lange Ketten, reichlich Leukozyten	Reinkultur. Kolonien flockigen Rand	Nur mittellange Ketten, klar
G 9	Kurze Ketten, bis 8 Glieder. Wenig Leukozyten, Diplokokkenform deutlich, doch mehr rund	Reinkultur glattrandig	Getrübt mit körnigem Bodensatz
G 10	dgl.	dgl.	dgl.
G 11	Lange Ketten bis 400—600 Glieder, reichlich Leukozyten, typisch	Reinkultur mit flockigem Rand	Ketten kürzer, klar mit Bodensatz
G 12	Ketten bis 6—8 Glieder, typisch mit wenig Leukozyten	Reinkultur, glattrandige Kolonien	Ketten länger. Gleichmäßige Trübung
G 13	dgl.	dgl.	dgl.
G 14	"	"	dgl.
G 15	"	"	Ketten nicht länger, nach 48 Std. klar
G 16	"	"	Nach 48 Std. klar, nur kurze Ketten
G 17	Mittellange Ketten bis 30 Glieder, typisch, Leukozyten reichlich	Reinkultur, Kolonien mit flockigem Rand	Ketten länger, Bouillon klar

belle I.
suchte Stämme

Drigalski-Platte	Endo-Platte	Rinderblut-Agarplatte	Mäuse-Impfversuch	Anmerkung
Ueppiges Wachstum von rötlichen Kolonien	kein Wachstum	Nach 24 Std. keine Hämolyse, nach 3Tag. ganz schwache Hämolyse	Nach 24 Std. leicht erkrankt. Nicht umgestanden	Seuchenhaftes Auftreten
dgl.	dgl.	keine Hämolyse	Reaktionslos vertragen	dgl.
”	”	dgl.	dgl.	Seuchenhaftes Auftreten, aus aus dem gleichen Bestande wie G_2
”	”	”	Nach 12 Std. leichte Erkrankung, gesundet	sporadischer Fall
”	”	Nach 24 Std. keine, n. 48 Std. schwache, nach 72 Std. starke Hämolyse	Reaktionslos vertragen	dgl.
”	”	keine Hämolyse	dgl.	seuchenhaftes Auftreten
”	”	dgl.	”	dgl.
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	”	”	”	”
”	Nach 48 Std. ganz schwaches Wachstum	”	”	”
”	kein Wachstum	”	”	”

Kultur Nr.	Ausstrich aus Milchbodensatz	Kultur auf Agarplatte ohne Zusatz	Pferdefleischbouillonkultur
G 18	Kurze Ketten, Diploform, die Glieder, doch mehr rundlich, Leukozyten wenig	Reinkultur, glattrandige Kolonien	Ketten länger, klar
G 19	Vereinzelte kurze Ketten mit 4–6 Gliedern, typisch, Leukozyten wenig	dgl.	Nach 48 Std. klar, vereinzelte lange Ketten
G 20	"	"	Erst nach 48 Std. klar, nur kurze Ketten
G 21	"	"	dgl.
G 22	"	"	dgl.
G 23	"	"	dgl.
Druse 1	Ketten bis 30 Glieder aus Druseeiter	Reinkultur, Kolonien unscharfen Rand	Klar, Ketten kürzer
Druse 2	Ketten bis 200 Glieder aus Druseeiter	dgl.	dgl.

den Streptokokken, die von sporadischen und ansteckenden Galtfällen stammten, konnte nicht ermittelt werden.

Wachstum in Pferdefleischbouillon.

In der Regel verkürzten sich die langen Ketten bei ihrem Wachstum in Bouillon, während die kurzen Ketten meist zu längeren Ketten heranwuchsen. Die Bouillonkulturen zeigten keine, sie besonders charakterisierenden Eigenschaften. Nach 24 Std. war bei der Mehrzahl der Kulturen Klärung mit schleimigem, beim Aufschütteln zopfförmig sich aufwirbelndem Bodensatz vorhanden. Bei der Gram-Färbung aus Bouillonkulturen sah ich öfter, daß der dunkle Farbton dieser Färbung nicht gut angenommen wurde. Die bei den Nativausstrichen ermittelten, die Galtstreptokokken charakterisierenden morphologischen Eigenschaften konnten bei den Bouillonkulturen meistens nicht gesehen werden.

Die mit den Bouillonkulturen angestellten Prüfungen auf Beweglichkeit ergaben bei keinem Stamme eine Eigenbewegung.

Wachstum auf Traubenzuckeragarplatte und -Stich, Traubenzuckerschüttelkultur, Gelatine-Stich und Milch.

Auf den genannten Nährböden zeigten alle Stämme ein gutes Wachstum. Irgendwelche sie auszeichnende Sonderheiten in der Wuchsform waren nicht zu konstatieren. Gasbildung konnte in der Traubenzuckerschüttelkultur nicht festgestellt werden. Gelatine wurde in keinem Falle verflüssigt. Die Bildung eines schwach grünlichen Farbstoffes konnte nur bei 2 Stämmen im Gelatine-Stich nach über einem Monat dauernder Aufbewahrung gesehen werden. Die Milch wurde von allen Stämmen nach 12—24 Std. unter Säuerung zum Gerinnen gebracht.

Wachstum auf Drigalski- und Endo-Nährboden.

Auf Drigalski-Nährböden ohne Kristallviolettzusatz wuchsen alle Stämme sehr üppig mit leicht rötlichen Kolonien bei gleichzeitiger Rötung des Nährbodens. Die Mehrzahl der Stämme konnte auf Endo-

Drigalski-Platte	Endo-Platte	Rinderblut-Agarplatta	Mäuse-Impfversuch	Anmerkung
Ueppiges Wachstum von rötlichen Kolonien	Nach 48 Std. schwaches Wachstum	keine Hämolyse	Reaktionslos vertragen	Seuchenhaftes Auftreten
dgl.	Wachstum ohne Fuchsinausscheidung	dgl.	5 Tage krank, sich aber ganz erholt	dgl.
„	Am 3. Tage schwaches Wachstum	„	Reaktionslos vertragen	„
„	dgl.	„	dgl.	„
„	„	„	„	„
„	kein Wachstum	„	„	„
Ueppiges Wachstum blauer Kolonien	dgl.	starke Hämolyse nach 24 Std.	Maus nach 24 Std. tot	.
dgl.	„	dgl.	dgl.	.

Platten nicht zur Fortpflanzung gebracht werden. Erst am 3. Tage wurde bei 7 Stämmen ein schwaches Wachstum ohne Fuchsinausscheidung gesehen. Hervorgehoben zu werden verdient der Stamm G 26 und G 26/1, die beide aus dem gleichen Euterviertel stammen und in einem Zeitintervall von 2 Monaten gezüchtet wurden. Bei der 1. Untersuchung war kein Wachstum auf der Endo-Platte zu erreichen, während der 2 Monate später gezüchtete Stamm G 26/1 geringes Wachstum am 3. Tage zeigte. Es dürfte somit das kulturelle Verhalten der Galtstreptokokken auch von der Krankheitsdauer abhängig sein, was auch mit ein Grund sein könnte, daß über das biologische und morphologische Verhalten der Streptokokken überhaupt so widersprechende Versuchsergebnisse erzielt wurden.

Ergebnisse auf der Blutagarplatte nach Schottmüller.

Zur Verwendung gelangte defibriniertes, steril gewonnenes Rinderblut, von welchem auf 10 ccm Agar 1 ccm zugesetzt wurde. Von den 37 untersuchten Mastitisstämmen zeigte nach 24stünd. Verweilen im Brutschrank kein einziger Hämolyse. Bei den Stämmen G 1, G 5 und G 26 konnte ein hämoyltisches Verhalten wohl nachgewiesen werden, doch war die Hämolyse erst am 3. Tage deutlich zu sehen. Stamm G 29 war der einzige, bei dem die Hämolyse schon nach 48 Std. stark ausgeprägt war. Es zeigten somit wohl 4 Stämme Hämolyse auf der Blutplatte, die aber frühestens nach 24 Std. auftrat, während die 2 untersuchten Drusestämme schon nach 24 Std. einen breiten, aufgehellten Saum um die Kulturen aufwiesen. Daß das hämolytische Vermögen sich im Verlaufe der Erkrankung ändern kann, zeigen die Untersuchungen an den Stämmen G 26 und G 29, die bei der 1. Untersuchung zu Beginn der Erkrankung verspätete Hämolyse zeigten, während bei den folgenden Prüfungen mit später gewonnenen Stämmen keine Hämolyse zu erzielen war. Alle Stämme zeigten auf der Rinderblutplatte ein sehr üppiges Wachstum von anfangs farblosen, später grauen oder grauweißen, leicht zügigen Kolonien. (Tabelle I u. II.)

Ta

Mehrmals unter

Kultur Nr.	Ausstrich aus Milchbodensatz	Kultur auf Agarplatte ohne Zusatz	Pferdefleischbouillonkultur
G 24	Lange Ketten bis 100 Glieder, daneben zahlreiche kurze, lange typisch, reichlich Leukozyten	Kolonie mit flockigem Rand und glattrandige Kolonien	Klar mit zügigem Bodensatz
G 24/1	Nur kurze Ketten bis 8 Glieder, Diploform, typisch, wenig Leukozyten	Reinkultur, glattrandige Kolonien	Erst nach 48 Std. klar, mittellange und sehr lange Ketten
G 25	Kurze Ketten bis 6—8 Glieder mit typischem Aussehen, wenig Leukozyten	dgl.	Nach 24 Std. klar, lange Ketten
G 25/1	Wenig diplo-streptokokkenartige Ketten, Glieder wenig typisch, ganz wenig Leukozyten	„	Erst nach 48 Std. klar. Ketten etwas länger
G 26	Kurze Ketten bis 8 Glieder typisch, wenig Leukozyten	„	Nach 24 Std. klar, lange Ketten
G 26/1	Wenige kurze Ketten 4—6 Glieder, wenig typisch, fast keine Leukozyten	„	Erst nach 48 Std. klar, Ketten etwas länger
G 27	Kurze Ketten, reichlich bis 8 Glieder, typisch, Leukozyten reichlich	„	Getrübt, mit körnigem Bodensatz
G 27/1	dgl.	„	dgl. Ketten nicht länger
G 28	Kurze Ketten bis 8—10 Glieder, typisch, wenig zahlreiche Leukozyten	„	Klar, Ketten etwas länger
G 28/1	Lange Ketten bis 40 Glieder, typisch, zahlreiche Leukozyten	Reinkultur von Kolon. mit flockigem Rand	Klar, sehr lange Ketten
G 28/2	Kurze Ketten bis 6 Glieder, typisch, wenig Leukozyten	Reinkultur, glattrandige Kolonien	Klar, Ketten etwas länger
G 29	Hauptsächlich kurze Ketten, vereinzelte sehr lange, typisch, reichlich Leukozyten	Kolonien mit glattem Rand und auch solche mit flockigem Rand	Klar, mit langen Ketten
G 29/1	Lange Ketten, typisch, reichlich Leukozyten	Reinkultur von Kolonien mit flockigem Rand	Klar, Ketten kürzer
G 29/2	Lange und kurze Ketten, typisch, reichlich Leukozyten	Glattrandige und Kolonien mit flockigem Rand	Klar, Ketten länger

Untersuchungen über das Säurebildungsvermögen.

Zu diesen Versuchen verwendete ich verschiedene Zuckerarten in Pferdefleischbouillon, und zwar: Galaktose, Glykose, Lävulose, Trauben-

belle II.
suchte Stämme.

Drigalski-Platte	Endo-Platte	Rinderblut-Agarplatte	Mäuse-Impfversuch	Anmerkung
Ueppiges Wachstum roter Kol.	Kein Wachstum	Keine Hämolyse	Reaktionslos vertragen	Seuchenhaftes Auftreten
dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	Einen Monat später aus Milch der Kuh G 24
„	Geringes Wachstum	„	„	Seuchenhaftes Auftreten
„	Geringes Wachstum am 3. Tag	„	„	1 Monat später aus Milch der Kuh G 25
„	Kein Wachstum	Nach 48 Std. schwache, nach 72 Std. starke Hämolyse	„	Seuchenhaftes Auftreten
„	Geringes Wachstum am 3. Tag	Keine Hämolyse	„	2 Monate später aus Milch der Kuh G 26
„	Kein Wachstum	dgl.	„	Seuchenhaftes Auftreten
„	dgl.	„	„	1 Monat später aus Milch der Kuh G 27
„	„	„	„	Seuchenhaftes Auftreten
„	„	„	„	1 Monat später aus Milch der Kuh G 28
„	„	„	„	2 Monate später aus Milch der Kuh G 28
„	„	Nach 48 Std. starke Hämolyse	„	Seuchenhaftes Auftreten
„	„	Keine	„	1 Monat später aus Milch der Kuh G 29
„	„	dgl.	„	2 Monate später aus Milch der Kuh G 29

zucker, Rhamnose, Milchzucker und hochwertige Alkohole wie Adonit, Mannit, Dulzit, Sorbit und Isodulzit. Die 1proz. Lösungen wurden in Eprouvetten zu 4 ccm Inhalt abgefüllt und jedes Röhrchen mit einem Tropfen gut gewachsener gewöhnlicher Bouillonkultur infiziert. Nach

48stünd. Bebrütung wurde zu jedem Röhrchen 0,25 ccm Lackmuslösung-Kahlbaum zugegeben. Je nach der stattgefundenen Säurebildung konnte ein Farbenumschlag ins Rötliche bis hochrot festgestellt werden. Von einer Titration mit Normallauge zur Ermittlung der gebildeten Säuremenge wurde absichtlich abgesehen, da ich der Ansicht bin, daß nur leicht ausführbare Untersuchungsmethoden für die praktische Anwendung von besonderer Bedeutung und von besonderem Wert sein können. Zwecks Beurteilung der Rotfärbung wurden diese Bouillonkulturen mit einem nicht infizierten Standardröhrchen der betreffenden Zucker- oder Alkoholreihe verglichen.

Tabelle III.

No. der Kultur	Monohexosen				Pentosen	Disaccharide	5atom. Alkohol	6atomige Alkohole			
	Galaktose	Glykose	Lävulose	Traubenzucker	Rhamnose	Milchzucker	Adonit	Mannit	Dulzit	Sorbit	Isodulzit
G 1	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 2	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 3	++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 4	++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 5	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 6	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 7	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 8	+++	++	++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 9	+++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 10	+++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 11	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 12	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 13	+++	++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 14	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 15	+++	+++	+++	+++	⊙	++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 16	+++	++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 17	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 18	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 19	+++	++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 20	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 21	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 22	++	+++	+++	++	⊙	++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 23	++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 24	+++	+++	++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 24/1	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 25	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 25/1	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 26	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 26/1	+++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 27	++	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 27/1	++	++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 28	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 28/1	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 28/2	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 29	++	+++	++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 29/1	++	+++	++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
G 29/2	+++	+++	+++	+++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
Druse 1	+	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
„ 2	+	+++	+++	++	⊙	+++	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙

Anmerkung: ⊙ = keine Säurebildung, + = Spur von Säurebildung, ++ = deutliche Säurebildung, +++ = starke Säurebildung.

Ganz übereinstimmend fand ich, daß aus allen Monohexosen und dem Milchzucker reichlich Säure gebildet wurde. Bei Rhamnose und den hochatomen Alkoholen wurde keine Säurebildung oder nur bei einigen Stämmen Spuren einer solchen nachgewiesen. Die 2 Drusestämme unterschieden sich von den Galtstämmen dadurch, daß in Galaktose nur minimale Säurebildung konstatierbar war. Auch den übrigen Zuckerarten stimmten sie mit den Galtstreptokokken überein. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in der Tabelle III (S. 58) festgehalten.

Pathogenitätsprüfung bei weißen Mäusen.

Zur Prüfung auf die Pathogenität verwendete ich weiße Mäuse, die $^1/_2$ ccm einer 24 Std. alten, gutgewachsenen Bouillonkultur intraperitoneal appliziert erhielten. Alle Stämme erwiesen sich für weiße Mäuse apathogen, da kein einziges Tier verendete. Nur in 2 Fällen erkrankten die Mäuse leicht; erholen sich aber nach kurzer Zeit wieder. Die beiden Drusestämme töteten die Mäuse innerhalb 24 Std.

Zusammenfassung.

Nach meinen Untersuchungen bin ich gleich Ernst zur Ueberzeugung gelangt, daß es nach dem morphologischen Verhalten möglich ist, die Galtstreptokokken mit Sicherheit aus dem Sedimentausstrich zu erkennen (Staketform), wenn zur Färbung Methylenblau benützt wird. In den selten vorkommenden Zweifelsfällen werden die bei Galt immer nachweisbaren Eiterkörperchen die Diagnose sichern helfen. Die Länge der Ketten, das Wachstum auf den verschiedenen festen Nährböden und das Aussehen der Kolonien auf denselben eignet sich nicht dazu, die Galtstreptokokken als solche zu identifizieren. Auch konnte ich bei meinen Untersuchungen gleich Gröning, Stähli, Gminder die kurzen und langen Ketten nicht als verschiedene Arten differenzieren und muß ich Kitt beipflichten, wenn er sagt, daß man ebensoviele Streptokokkenarten unterscheiden müßte, als es Galtfälle gibt. Der Streptococcus lacticus, einer der am häufigsten in der Milch vorkommenden Streptokokkenart, läßt sich morphologisch schon leicht von den Galtstretpokokken unterscheiden; ihm fehlen die Staketform, auch wächst er selten zu längeren Ketten aus. Sein Wachstum auf gewöhnlichem Agar ist im allgemeinen kein besonders gutes. Ein ihm besonders zusagender Nährboden ist Milchagar. Im Gegensatz zu Gminder fand ich alle Stämme stark grampositiv, wenn ich zur Gram-Färbung den Nativausstrich benützte. Auf Drigalski ohne Kristallviolottzusatz zeigten meine sämtlichen Stämme üppiges Wachstum mit Säurebildung. Gminder sah nur $^2/_3$ seiner Stämme wachsen. Ein ähnliches Verhalten, wie Gminder auf Drigalski feststellen konnte, zeigten meine Stämme auf Endo; von 37 Stämmen wuchsen nur 7 Stämme verzögert am 3. Tage, während die übrigen nicht zum Wachstum gebracht werden konnten. Gleich Laabs und Kollenz konnte ich im Gegensatz zu Gminder, Jones, Davis und Frost-

Bachmann in den ersten 24 Std. bei keinem Galtstreptokokkenstamm auf der Rinderblutplatte Hämolyse erhalten. Das Fehlen der hämolytischen Eigenschaften könnte auch damit in Zusammenhang gebracht werden, daß die Galtstreptokokken von nicht pathogenen Streptokokkenarten abstammen, wie dies von anderen Forschern bereits gezeigt wurde; Gminder konnte mit ganz gewöhnlichen Stallstreptokokken eine ausgesprochene Streptokokkusmastitis erzeugen. Wie alle Forscher, mit Ausnahme von Stähli, der unter 15 Stämmen 4 nicht Milch koagulierende und nicht säurebildende fand, und Sven Wall, dessen Stämme nur geringe Säurebildung und keine Milchkoagulierung hervorriefen, habe ich bei meinen Stämmen reichliche Säurebildung und Gerinnung der Milch innerhalb von 18—24 Std. konstatieren können.

In den zucker- und alkoholhaltigen Nährböden zeigten sämtliche Stämme ein übereinstimmendes gleichartiges Verhalten. Keine Säurebildung konnte ich wie Kollenz auf Rhamnose, Mannit, Dulzit und Sorbit-Bouillon nachweisen. Auch Gminder erwähnt, daß seine Stämme Barsiekow-Mannit und Lackmusmannitnährböden nicht röteten. Weitere Untersuchungen wären sicher angezeigt, ob sich nicht doch die in der Milch saprophytisch vorkommenden Streptokokkenarten durch Zuhilfenahme von Zuckerarten und hochatomen Alkoholen differenzieren ließen.

Im Gegensatz zu Gröning, Stähli und Gminder fand ich keinen einzigen Streptokokkenstamm für Mäuse pathogen, obwohl ich unter den verarbeiteten Stämmen mehrere hatte, die schwere Formen von Euterentzündungen unter Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Tiere hervorgerufen hatten.

Schlußsätze.

1) Die Galtstreptokokken sind durch ihre morphologischen Eigenschaften (Staketform) bei einiger Uebung mit Sicherheit aus dem Zentrifugalbodensatz nach Färbung mit Methylenblau zu erkennen. — 2) Die Streptokokken des sporadischen und des seuchenhaften Galtes können nicht als zwei verschiedene Streptokokkenarten aufgefaßt werden, da sie keine sie besonders charakterisierenden biologischen und morphologischen Eigenheiten aufweisen. — 3) Die von mir untersuchten Stämme aus Rinderbeständen Niederösterreichs erzeugten nach 24 Stunden auf der Rinderblutplatte keine Hämolyse und waren alle für weiße Mäuse apathogen. — 4) Auf Rhamnose, Adonit, Sorbit, Mannit, Isodulzit und Dulzit-Bouillon zeigten sie übereinstimmend keine Säurebildung, während auf den Monohexosen und Milchzucker reichliche Säuerung festgestellt wurde.

Literatur.

1) Holst, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 18. S. 543. — 2) Jakobsen, zitiert nach 5. — 3) Weigmann und Gruber, Th., zitiert nach 5. —

4) Lameris und v. Harrewelt, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1904. H. 4. — 5) Ernst, Ueber Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 20 u. 21.) — 6) Gröning, G., Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens. (Diss.) Bern 1901. — 7) Stähli, A., Biologie des Streptococcus mastitidis cont. (Dissert.) Zürich 1904. — 8) Kitt, Bakterienkunde u. path. Mikroskopie, Wien 1903. — 9) Hammerschmidt, J., Gegenwärtiger Stand d. Forschung ü. d. Bakteriologie d. Milch. (Centralbl. f. d. ges. Hyg. Bd. 5. H. 5). — 10) Salus, Arch. f. Hyg. Bd. 75. 1912. — 11) Ruediger, Jahresversammlung amerik. Bakteriologen. Dez. 1911. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 51. 1912. — 12) Hachtel, Journ. of the Americ. med. Assoc. Vol. 61. 1913. zit. nach 9. — 13) Saito, Arch. f. Hyg. Bd. 75. 1912. — 14) Stowell, Hilliard und Schlesinger, Journ. of inf. Dis. Vol. 12. 1913; zit. nach 9. — 15) Gminder, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. — 16) Frost und Bachmann, Americ. Journ. of Publ. Health. Vol. 13. 1923. — 17) Jones, Studies of the Rockefeller Inst. of Med. Res. Vol. 32. 1920; zit. nach 9. — 18) Davis, Journ. of inf. Dis. Vol. 19. 1916; zit. nach 9. — 19) Burri, Landwirtschaftl. Jahrbuch f. d. Schweiz. Bd. 25. 1912. — 20) Salter, Americ. Journ. of Hyg. Vol. 1. 1921; zit. nach 9. — 21) Kollenz, Ein Beitrag zur Unterscheidung der tierischen Streptokokken [Dissert.] Wien 1924. — 22) Hoessli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. — 23) Ricke, zit. nach 15. — 24) Nenoki, zit. nach 15. — 25) Zschokke, Schweizer Arch. f. Tierheilk. 1904. — 26) Heinemann, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1906. — 27) Kaiser, Arch. f. Hyg. Bd. 59. S. 51. — 28) Sven Wall, Euterentzündungen der Kuh. Stuttgart 1908. — 29) Baumann, Münch. med. Wochenschr. 1906. — 30) Laabs, Ztschr. f. Veterinärk. Jahrg. 22. 1910. — 31) Müller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 27. S. 468.

Ueber die agglutinatorische Beziehung der Hühnertyphusbazillen gegenüber Menschentyphusbazillen.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von **Giichi Takayanagi.**

Ganz wenige Bakterien sind bekannt, welche den Typhusbazillen von Eberth agglutinatorisch nahe stehen. Als zu ihnen gehörige Bakterien müssen Gärtner-Bazillen in erster Linie gezählt werden. Sie können im Typhusserum sehr stark, manchmal bis zum Titer, umgekehrt aber Typhusbazillen im Gärtner-Serum gleich stark agglutiniert werden. Doch scheint diese agglutinatorische Beziehung bei allen Stämmen und ihren Seren immer nicht so konstant aufzutreten, denn man kann manchmal bei der Agglutination beider Bakterien in heterologen Seris gegeneinander den Fall beobachten, wo sie in heterologen Seren sehr schwach beeinflußt werden. Wenn auch Paratyphus B-Bazillen manchmal im Typhusserum so stark, fast bis zum Titer, agglutinieren können, so muß dieser Fall doch als Ausnahme betrachtet werden. Wir kennen noch eine andere Bakterienart, welche mit Typhusbazillen agglutinatorische Beziehung hat; es ist der Bacillus abortus equi. Sie können im Typhusserum sehr stark und umgekehrt Typhusbazillen im Serum von abortus equi auch sehr stark agglutinieren.

Kürzlich wurde noch eine Bakterienart beim Huhn nachgewiesen, welche zu Typhusbazillen eine noch nähere Beziehung hat. Diese

Mikroorganismen rufen bei Hühnern eine schrecklich mörderische Infektionskrankheit hervor und wurden zuerst 1889 von Klein in England, dann von Lucet in Frankreich, von Morre, Smith und Ten Broeck und Handly in Amerika, und von Kraus und Pfeiler in Deutschland nachgewiesen. In Japan wurden sie erst im vorigen Jahre von Konno in Korea beobachtet. Ich hatte Gelegenheit, sie mit Typhusbazillen vergleichend zu untersuchen, weil uns viele Stämme davon von Konno zur Verfügung gestellt wurden. Auch an dieser Stelle spreche ich ihm meinen verbindlichsten Dank dafür aus.

Wenn auch diese Bakterien schon von vielen Forschern morphologisch und kulturell studiert worden sind, so wollte ich doch ihre Untersuchung wiederholen, um die Reinheit dieser Stämme zu prüfen. Dabei wurden die Beobachtungen, welche schon von vielen Forschern gemacht worden waren, von mir wieder vollkommen bestätigt. Es waren nämlich an beiden Enden abgerundete kurze Stäbchen, gramnegativ, unbeweglich, ohne Kapselbildung. Sie blieben im fertigen Ausstrichpräparat einzeln getrennt, waren aber ab und zu auch doppelt gekettet. Auf Schrägagar wuchsen sie wie Typhusbazillen, manchmal etwas dünner, auf Gelatine gut. Gelatine wurde dabei nicht verflüssigt. Auf Kartoffel, Neutralrotagar und in Bouillon wachsen sie ganz so wie Typhusbazillen, in Lackmusmolke gut; dabei wurde der Nährboden anfangs rot, dann blau wie bei Paratyphus B-Bazillen. In Milch zeigten sie die gleiche Veränderung, wie sie von Paratyphus B-Bazillen hervorgerufen wird. Nach diesem Ergebnis scheinen sie kulturell einerseits Typhusbazillen und andererseits Paratyphus B-Bazillen ähnlich zu sein. Da sie unbeweglich sind, wurden sie manchmal für den Dysenteriebazillen ähnlich gehalten. Wenn sie auch kulturell einerseits Typhus, andererseits Paratyphus ähnlich sind, so verhalten sie sich doch agglutinatorisch so, daß sie nur vom Typhusserum sehr stark, manchmal bis zum Titer beeinflußt werden können. Diese merkwürdige Erscheinung wurde zuerst von Pfeiler und Rehse 1913 bemerkt. Smith und Ten Broeck waren nicht imstande, die beiden Bakterien agglutinatorisch zu unterscheiden. Absorptorisch konnten sie aber die beiden Mikroben deutlich differenzieren, so daß Hühnertyphusbazillen das spezifische Agglutinin des Typhusserums nicht, wohl aber umgekehrt Typhusbazillen das des Hühnertyphusserums vollkommen erschöpfen konnten. Infolgedessen wurden unsere Stämme agglutinatorisch in den verschiedenen repräsentierenden Seren untersucht, die gewöhnlich in unserem Institut zu diagnostischen Zwecken gebraucht werden. Es waren im ganzen 11, von denen 1 Typhus, 2 die 2 Typen von Paratyphus B-, 2 andere die 2 Typen von Mäusetyphus, noch 2 andere die 2 Typen von Paratyphus A-, ferner noch 2 andere die 2 Gärtner-Sera, 1 Abortus equi- und 1 Hogcholeraserum darstellten. Sie agglutinieren im Typhusserum sehr stark, so daß der Wert des Bruches, dessen Nenner den Titer der Hauptagglutination und der Zähler den Titer der Mitagglutination darstellt, so stark wie 1/10 wurde. Sie wurden aber in anderen Seren entweder gar nicht, oder nur in schwächerem Grade beeinflußt. Im Serum von Paratyphus B, besonders in dem einen Typus, und in einem Gärtner-Serum wurden sie etwas stark agglutiniert (Tab. I). Nach diesen Ergebnissen wurde auch festgestellt, daß Hühnertyphusbazillen im Typhusserum sehr stark beeinflußt werden können, wie das schon viele Forscher bemerkt haben. Doch scheint der Grad, in welchem sie im Typhusserum agglutinieren, je nach den Autoren ziemlich verschieden zu sein, denn

Tabelle I.

Name der Immunsera		Ty_{39}	PA_8	PA_1	PB_1	PB_{37}	Ms_2	Ms_{34}	EG_1	EG_{18}	Ab. eg.	Hog.C
Titer		20 000	10 000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000	20 000	10 000	10 000
Name der Bakterien	Ht_1	1000	50	100	200	50 —	100	100	50	100	50 —	50 —
	Ht_2	1000	100	100	200	50 —	100	100	100	100	50 —	50 —
	Ht_3	1000	100	100	200	50 —	50	50	50	100	50 —	50 —
	Ht_4	1000	50	100	200	50 —	200	100	50	200	50 —	50 —
	Ht_5	2000	100	100	200	50 —	200	100	50	200	50 —	50 —
	Ht_6	1000	100	100	200	50 —	200	100	50	100	50 —	50 —

sie agglutinierten einerseits bei Smith und Ten Broeck und wieder bei Pesch und Schütt so stark wie der Titer, andererseits aber bei anderen, z. B. bei Konno und mir, viel schwächer, nämlich nur 1/5 bis 1/20 vom Titer. Woran kann das liegen? Man muß zuerst das Typhusserum berücksichtigen, in dem diese Bakterien stark agglutinieren. Wie man bei uns immer beobachtete, ist die Mitagglutination im Verhältnis zur Hauptagglutination je nach den Seren stark variabel. Deshalb wurden viele Typhusimmunsera, welche nicht nur bei uns, sondern auch in anderen Instituten hergestellt waren, gegen Hühnertyphusbazillen geprüft, um zu erkennen, ob sie alle im gleichen Grade oder im gleichen Verhältnis von Hühnertyphusbazillen beeinflußt werden können (Tab. II). Es stellte sich dabei heraus, daß diese Mikroben in

Tabelle II.

Name der Immunsera		Ty_{39}	Ty Kitasato	Ty_{332}	Ty Osaka	Ty Denken	Ty_{37}	Ty_{39}	Ty_{40}	Ty_{37}	Ty_{39}	Ty_{39}	Ty_{37}	Ty_7	Ty_{40}	Ty_{39}	Ty_{41}
Titer		20 000	50 000	20 000	100000	50 000	20 000	20 000	10 000	10 000	50 000	50 000	20 000	20 000	10 000	10 000	10 000
Name der Bakterien	Ht_1	2000	5000	1000	5000	2000	500	500	200	200	1000	1000	200	100	50	50	50 —
	Ht_2	2000	5000	1000	5000	2000	500	500	200	200	1000	1000	200	100	50	50	50 —
	Ht_3	2000	5000	1000	5000	2000	500	500	200	200	1000	1000	200	100	50	50	50 —
	Ht_4	2000	5000	1000	5000	2000	500	500	200	200	1000	1000	200	100	50	50	50 —
	Ht_5	2000	5000	1000	5000	2000	500	500	200	200	1000	1000	200	100	50	50	50 —
	Ht_6	2000	5000	1000	5000	2000	500	500	200	290	1000	1000	200	100	50	50	50 —

verschiedenen Typhussera außerordentlich verschieden stark agglutinieren. So wurden sie in einem Serum im Verhältnis von 1/10, in einem anderen 1/50 und in noch einem anderen Serum 1/100, ja sogar in einem ferneren Serum 1/200 beeinflußt, wie schon Aoki und Konno bei der Agglutinationsuntersuchung von Paratyphus B-Bazillen im Typhusserum beobachteten. Nun muß man noch weiter untersuchen, ob diese Schwankung der Mitagglutination von Hühnertyphusbazillen an der Individualität der Typhusstämme, womit die Typhussera hergestellt waren, oder an der Individualität der Tiere liegt, welche Sera liefern. Ferner muß man noch berücksichtigen, ob diese Erscheinung durch die Immunisierungsweise hervorgerufen wird, wie Aoki und

Konno schon bei der Immunisierung mit Typhusbazillen Paratyphus B-Bazillen gegenüber beobachteten. Falls das Tier oftmals mit großen Dosen von Typhusantigen immunisiert wird, steigt die Mitagglutination der Paratyphus B-Bazillen schließlich so sehr, daß sie im Typhusserum bis zum Titer agglutinieren können. Deshalb wurden 2 Kaninchen mit Typhusbazillen in starken Dosen über 10mal vorbehandelt und während der Immunisierung mehrmals Blutproben entnommen. In diesen Seris wurde sowohl die Hauptagglutination als auch die Mitagglutination geprüft. Es stellte sich dabei heraus, daß die Mitagglutination der Hühnertyphusbazillen bei der 1. Vorbehandlung schon im Maximum eintrat, während die Hauptagglutination, welche ebenfalls im Anfang stark zugenommen hatte, mit weiterer Immunisierung immer noch stieg. Infolgedessen wurde der Agglutinationsindex der Typhusbazillen Hühnertyphusbazillen gegenüber im Anfang viel größer als am Ende. So fand ich ihn im Anfang 1/4, aber am Ende der ganzen Immunisierung 1/50 (Tab. III). Ferner wurde geprüft, ob die obige Er-

Tabelle III.

Zahl der Vorbehandlungen	1	2	3	4	5	6	7	8	6	10
$\frac{Ht}{Ty}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$

scheinung auch an der Individualität der Stämme der Typhusbazillen liegt. Wie schon viele Autoren bemerkten, reagieren Typhusbazillen im Hühnertyphusserum sehr stark, bis zum Titer. Diese Erscheinung wurde von mir auch beobachtet. Ich immunisierte nämlich 6 Kaninchen mit 6 Stämmen von Hühnertyphusbazillen viele Male. Während der Immunisierung wurde die Blutprobe jedesmal gerade vor der folgenden Vorbehandlung entnommen. In diesen Seren wurden Typhusbazillen agglutinatorisch untersucht. Es ergab sich dabei, daß Typhusbazillen darin ohne Ausnahme ebenso stark wie homologe Bazillen agglutinieren.

Um ferner zu erkennen, ob alle Typhusstämme darin immer so stark agglutiniert werden, d. h. ob eine Individualität der Typhusbazillen Hühnertyphusseren gegenüber vorhanden ist, wurden viele Stämme von Typhusbazillen im Hühnertyphusserum agglutinatorisch untersucht. Merkwürdigerweise stellte es sich dabei heraus, daß alle Stämme der Typhusbazillen darin nicht gleich stark agglutinierten. Gewisse Stämme reagierten nämlich bis zum Titer, andere schwach, noch andere gar nicht (Tab. IV, S. 65). Angesichts dieser Tatsache liegt die Vermutung nahe, daß Typhusserum, welches Hühnertyphusbazillen nicht agglutinieren kann, wie schon oben beobachtet wurde, auch dadurch zustande gekommen sein kann, daß Kaninchen gerade zufällig mit obigen, im Hühnertyphusserum inagglutinablen Typhusstämmen immunisiert wurden. Unter dieser Annahme wurden Kaninchen mit obigen leicht-, schwer- und inagglutinablen Stämmen von Typhusbazillen vorbehandelt. Während der Immunisierung wurden alle 7 Tage Blutproben nach den einzelnen Vorbehandlungen entnommen und in diesen Seren Hühnertyphusbazillen agglutiniert. Es stellte sich heraus, daß das eine Kaninchen, welches

Tabelle IV.

Name der Immunsera		Ht_1	Ht_2	Ht_3	Ht_4	Ht_5	Ht_6
Titer		1000	1000	1000	1000	2000	1000
Name der Bakterien	Ty_4	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_5	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_6	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_{39}	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_{363}	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_{364}	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_{365}	1000	1000	1000	1000	2000	1000
	Ty_1	500	200	200	200	500	1000
	Ty_{367}	500	500	200	500	1000	500
	Ty_{366}	500	200	200	500	500	500
	Ty_2	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —

mit dem 1. Stamme vorbehandelt war, ein Serum lieferte, welches Hühnertyphusbazillen stark, bis zum Titer; dagegen das andere Kaninchen, welches mit dem 3. Stamm vorbehandelt war, ein Serum lieferte, welches Hühnertyphusbazillen fast gar nicht agglutinierte. Das 3. Kaninchen, welches mit dem 2. Stamm vorbehandelt worden war, gab ein Serum, das Hühnertyphusbazillen stark, aber nicht so stark wie das 1. agglutinierte. Nach diesen Ergebnissen scheint die oben erwähnte Erscheinung, daß nämlich Hühnertyphusbazillen in einem Typhusserum sehr stark und in einem anderen fast nicht agglutinieren, klar gestellt zu sein. Falls nämlich Tiere mit solchen Typhusstämmen vorbehandelt werden, welche im Hühnertyphusserum gut agglutinabel sind, kann man immer solche Sera bekommen, welche ebenfalls Hühnertyphusbazillen sehr stark bis zum Titer agglutinieren. Dabei muß aber darauf geachtet werden, das Serum den Kaninchen möglichst früh, d. h. schon im Anfangsstadium der Immunisierung zu entnehmen. Zum Schlusse wurden die absorptorischen Beziehungen der beiden Bakterienarten geprüft und dabei wurde festgestellt, daß Typhusbazillen Hühnertyphusbazillen gegenüber doppelte Rezeptoren enthalten, wie schon Gruschka beobachtete. Wenn Typhusserum mit Hühnertyphusbazillen erschöpft wurde, so agglutinierten Typhusbazillen darin so stark wie vor der Absorption.

Tabelle V.

Name der Immunsera		Ty_5							Ht_1						
Vorbehandlung			erschöpft mit							erschöpft mit					
			Ht_1	Ht_2	Ht_3	Ty_5	Ty_6	Ty_{39}		Ht_1	Ht_2	Ht_3	Ty_5	Ty_6	Ty_{39}
Name der Bakterien	Ht_1	2000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	1000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —
	Ht_2	2000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	1000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —
	Ht_3	2000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	1000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —
	Ty_5	2000	10 000	10 000	20 000	50 —	50 —	50 —	1000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —
	Ty_6	3000	10 000	20 000	20 000	50 —	50 —	50 —	1000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —
	Ty_{39}	2000	20 000	20 000	20 000	50 —	50 —	50 —	1000	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —	50 —

Im homologen Serum agglutinierten Hühnertyphusbazillen gar nicht mehr, falls Hühnertyphusserum mit Typhusbazillen erschöpft wurde (Tab. V, S. 65). Diese Erscheinung wurde von Smith und Ten Broeck zuerst bemerkt.

Zusammenfassung und Schlußbetrachtung.

1) Hühnertyphusbazillen agglutinieren im Typhusserum sehr stark, manchmal bis zum Titer. — 2) Doch wurde beobachtet, daß unter vielen Typhussera solche vorkommen, welche Hühnertyphusbazillen gar nicht agglutinieren können. — 3) Typhusbazillen agglutinieren im Hühnertyphusserum ebenso stark wie homologe Bakterien. Doch fand ich unter Typhusstämmen solche, welche darin gar nicht agglutinierten. — 4) Wenn Tiere mit ersteren Stämmen vorbehandelt wurden, so bekam man Sera, welche Hühnertyphus sehr stark, bis zum Titer, beeinflussen. Dagegen bekam man Sera, welche Hühnertyphusbazillen gar nicht beeinflussen, wenn Kaninchen mit letzteren Stämmen von Typhusbazillen vorbehandelt wurden. — 5) Wenn Hühnertyphusbazillen während der Immunisierung von Kaninchen mit Typhusbazillen manchmal agglutinatorisch untersucht wurden, so sah man, daß Hühnertyphusbazillen darin im Anfang der Immunisierung im Vergleich zur Hauptagglutination stärker als an ihrem Ende reagieren. — 6) Infolgedessen darf ich wohl annehmen, daß die oben beobachtete Schwankung der Agglutination von Hühnertyphusbazillen in Typhusseren einerseits durch die Individualität der Typhusbazillenstämme, andererseits durch die Immunisierungsweise hervorgerufen wird.

Literatur.

1) Klein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 5. 1889. S. 689. — 2) Pfeiler und Rehse, Ibid. Abt. I. Ref. Bd. 58. 1913. S. 575. — 3) Smith and Ten Broeck, Journ. Med. Res. Vol. 31. 1915. p. 503. — 4) Pfeiler und Reepkt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 125. — 5) Kraus, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 125. — 5) Kraus, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919. S. 282. — 6) Pfeiler, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 369. — 7) Gruschka, Ztschr. f. Immunitsf. Orig. Bd. 30. 1921. S. 209. — 8) Konno, Chūō Juikai Zasshi (Japan). Vol. 37. 1922. p. 1. — 9) Pesch und Schütt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1914. S. 414.

Zur Chemie der Desinfektion und über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung[1]).

Zugleich ein Beitrag zur Vitalfärbung.

Von **Josef Schumacher**, Berlin.

Mit 2 Tafeln.

Durch die grundlegende Arbeit von Krönig und Paul (1) wissen wir, daß bei der Desinfektion mit Schwermetallsalzlösungen den Ionen sicherlich eine erhebliche Bedeutung zukommt. Während die einen Autoren glauben, mehr die eintretende physikalische Adsorption für den Zelltod verantwortlich machen zu müssen. erblicken die anderen wieder die Ursache der Desinfektionswirkung in den eintretenden chemischen Veränderungen zwischen Desinfektionsmittel einerseits und Zellinhaltsstoffen andererseits. Diese Ansicht wurde auch von mir verschiedentlich vertreten (2) und die Ursache der Desinfektionswirkung in dem Zustandekommen einer chemischen Verbindung zwischen Schwermetallsalzionen und dem Zellkern der Bakterien erblickt, wofür ich in erster Linie die Entstehung von nukleinsaurem Schwermetallsalz verantwortlich machen zu müssen glaubte.

Diese Ansichten erfuhren eine gewisse Stütze durch Versuche von Liese und Mendel (3), die gezeigt haben, daß Silber aus Silbernitratlösungen von bestimmter Konzentration primär an der Zelloberfläche adsorbiert wird und daß es hierbei lediglich zu einer Entwicklungshemmung der Keime kommt, während sie eine Abtötung der Bakterien erst dann eintreten sahen, wenn es ihnen mit der Leukomethylenblaumethode (4) gelang, das Mittel auch im Innern der Bakterienzelle nachzuweisen. In einer weiteren Arbeit konnte Liese (5) nachweisen, daß Subtilissporen gegen Silbernitratlösungen unempfindlich sind, eine Abtötung aber zu erreichen war, wenn er die Sporen vorher mit Ammoniak behandelte, wodurch sie für die Metallionen, wie das aus meinen histochemischen Untersuchungen bereits hervorging (6), durchlässiger werden. Seine Versuche zeigten, daß das Eindringen des Metallions in die Zelle von großer Bedeutung für den desinfektorischen Endeffekt sein muß. Eine Tatsache stand allerdings von jeher mit der ausschließlichen Bedeutung der Metallionen für die Desinfektionswirkung in Widerspruch, nämlich der Befund, daß das relativ wenig dissoziierte Sublimat desinfektorisch viel stärker wirksam ist, als das viel stärker ionisierte Quecksilbernitrat. Dieser Unterschied in der Wirkung soll nach den meisten Autoren auf der besseren Lipoidlöslichkeit des Sublimats beruhen (7). Ferner war bekannt, daß die desinfizierende Wirkung des Sublimats eine geringere wird, wenn man ihm in steigender Menge Alkalichlorid zusetzt. Man erklärte dies

---

1) II. Teil des am 17. Nov. 1924 in der Berl. Mikrobiol. Ges. nebst Demonstr. gehaltenen Vortrages. S. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. 333.

damit, daß hierdurch die Dissoziation des Sublimats zurückgedrängt und die Bildung von Komplexsalzen gefördert werde, die ihrer schwachen Ionisierung wegen ebenfalls keine desinfizierende Wirkung mehr entfalten könnten. Von dieser Tatsache ausgehend, untersuchte Krahe (8) die Lipoidlöslichkeit dieser komplexen Hg-Salze und fand, daß sie proportional der Menge der entstehenden Komplexsalze abnimmt, so daß sie in den extremsten Fällen beinahe den Wert null erreicht. Aus seinen Untersuchungen schließt Krahe mit Recht, daß die Dissoziation bei der Desinfektion mit Schwermetallen nur einer der maßgebenden Faktoren sei und der Lipoidlöslichkeit eine ebenso große Bedeutung für den Desinfektionserfolg zukommen müsse. Für das Silbernitrat wurde ferner von Liese gezeigt, daß es praktisch lipoidunlöslich sei.

Daß der Lipoidlöslichkeit der Desinfektionsmittel eine hohe Bedeutung zukommt, wurde, wie schon betont, von allen Autoren erkannt. Diese Tatsache suchte man mit der Overtonschen Theorie der Lipoidnatur der Zellmembran in Einklang zu bringen, nach welcher eben die lipoidlöslichen Mittel deshalb einen höheren desinfektorischen Effekt entfallen sollen, weil sie leichter die Zellmembran zu passieren vermochten. In der Tat konnten wir bereits 1924 nachweisen, daß am chemischen Aufbau der Membran der Milzbrandsporen offenbar Lipoide beteiligt sind, die Membran selbst aber aus einem Lipoproteid besteht, womit wir Lipoideiweißverbindungen bezeichneten (9). Andererseits habe ich bei vegetativen Formen wenigstens der bis jetzt untersuchten Bakterien keine aus Lipoid bestehende Zellmembran mit Sicherheit nachweisen können, die aber in einigen Fällen sicherlich sich aus Lipoproteiden aufbauen dürfte (Sarcina agilis). Auch spricht gegen die Overtonsche Theorie bekanntlich die Erfahrung, daß auch nicht lipoidlösliche Zellnährstoffe, beispielsweise Traubenzucker, die Zellmembran zu passieren vermögen.

Würde aber der bessere Desinfektionserfolg der lipoidlöslichen Mittel lediglich davon abhängen, daß sie leichter die lipoidhaltige Zellmembran zu passieren vermögen, so dürften einmal als fast lipoidunlöslich geltende Mittel, wie das Silbernitrat, überhaupt keine desinfizierenden Eigenschaften besitzen, weiter müßte auch beispielsweise das lipoidlösliche Phenol in öliger Lösung, in welcher es sicherlich die Zellmembran zu passieren vermag, ebenfalls desinfizierend wirken. Wir sehen aber sowohl, daß das Silber in die Zellen einzudringen vermag (2 b), als auch daß Karbolsäure in öliger Lösung nicht desinfiziert.

Ich habe von jeher den Standpunkt vertreten, daß wir auch auf diesem Gebiete erst dann klarer sehen werden, wenn wir auch den chemischen Aufbau der Bakterienzelle genauer kennen. Betrachten wir die Ergebnisse der neuesten Untersuchungen, die uns gezeigt haben (11), daß die Kerne vieler Bakterien ebenfalls lipoidhaltig sind, aus Karyoproteiden bestehen und nur bei einigen Nukleoproteide an deren Kernaufbau beteiligt sind (Gonococcus), so erkennen wir, daß wir jetzt viele Dinge einfacher zu erklären vermögen, als wir bisher dazu in der Lage waren. Für die eintretende Desinfektionswirkung halte ich nicht nur mit Krönig und Paul die Dissoziation der Metallsalzlösungen und mit Krahe die Lipoidlöslichkeit der Metallsalzverbindungen für wichtig, sondern erblicke das Wesentliche der Wirkung gut desinfizierender Mittel darin, daß diese wasser- und lipoidlöslich sein und eine größere Lipoid- als Wasserlöslichkeit besitzen müssen,

damit die lipoidhaltigen Kerne der Bakterien, kraft ihres höheren Lösungsvermögens für diese Stoffe, diese auch aus hohen Verdünnungen der wässerigen Lösungen elektiv aufzunehmen vermögen. Ist nämlich die Lipoidlöslichkeit eines Desinfektionsmittels derjenigen in Wasser gleich, so wird eine elektive Speicherung des Desinfektionsmittels in den Kernlipoiden ebensowenig in Frage kommen, als wenn das Mittel nur wasserlöslich ist. Das Entscheidende bei der Desinfektion liegt daher in dem Zustandekommen von chemischen Verbindungen zwischen Desinfektionsmittel einerseits und den lipoidhaltigen Zellinhaltsstoffen andererseits, andernfalls, wenn die Lipoidlöslichkeit allein den Ausschlag geben würde, auch ölige Phenollösungen desinfizierend wirken müßten. Machen wir uns diese Betrachtungen zu eigen, so ist eine absolut starke Dissoziation der Hg-Salze auch keine Vorbedingung mehr für den Desinfektionserfolg, denn wir können uns dann sehr leicht die Sublimatwirkung so vorstellen, daß die Karyoproteide des Bakterienkerns, kraft ihres höheren Lösungsvermögens für das stärker lipoid- als wasserlösliche Sublimat, dieses primär elektiv aus der wässerigen Phase heraus zu speichern vermögen, und daß es dann erst sekundär zu der das Leben der Bakterienzelle entscheidenden Salzbildung kommt: zur Bildung von karyoninsaurem Hg unter Chlorabspaltung am Beispiel der Sublimatdesinfektion. Damit diese Salzbildung eintritt, ist nicht Vorbedingung, daß das Sublimat stark ionisiert ist, denn ich konnte ja gerade mit einer alkoholischen Sublimatlösung, in welcher das Sublimat ebenso wie das Silbernitrat fast gar nicht ionisiert ist, wie man das auch am Kernbild der Leukozyten beweisen kann (2a), das Hg-Salz eines Hefelipoids darstellen (9). Der Vorgang der Bindung des Quecksilbers an die Karyo- und Lipoproteide der Bakterienzelle dürfte dann so verlaufen, daß die in der relativ schwach dissoziierten Sublimatlösung zur Verfügung stehenden Hg-Ionen von den genannten Zellinhaltsstoffen unter Salzbildung gebunden werden und daß entsprechend den dadurch aus der Sublimatlösung verschwindenden Hg-Ionen weitere Moleküle dissoziieren. Aehnliche Gedankengänge bezüglich der Dissoziation äußert auch Heubner (12). Den eben geschilderten Vorgang der Aufnahme des Desinfektionsmittels durch die Zellipoide können wir ja am Beispiel der Viktoriablaubase für das Auge demonstrieren. Die Viktoriablaubase ist, wie eine diesbezügliche Bestimmung ergab, nur im Verhältnis von 1:1000000 in Wasser löslich. Selbst dieser Verdünnung entziehen die Mikroorganismen die Base elektiv und färben sich in dem Tone der Viktoriablausalze blau, nach 24 Std. sogar ganz intensiv blau, wenn wir nur durch Zugabe von Viktoriablaubase in Substanz dafür sorgen, daß die der wässerigen Lösung durch die Mikroorganismen entzogenen Moleküle der Base aus der zugesetzten Substanz wieder in Lösung zu gehen vermögen. Wir kommen weiter unten hierauf noch zurück. Für den eintretenden Zelltod bei der Einwirkung von Säuren kommen die dadurch bedingten Veränderungen der Zellkolloide höchstens in untergeordnetem Grade in Betracht. Das erscheint mir dadurch bewiesen, daß gleiche Konzentrationen verschiedener Säuren nicht den gleichen Effekt haben, sondern ihrem Hydrolysierungsvermögen entsprechend wirken. Warum tritt der Zelltod der Sporen so schwer ein trotz Koagulation des Eiweißes in der Hitze, aber sehr rasch, wenn bei Gegenwart von Wasser, das zur Hydrolyse erforderlich ist, und erhöhtem Druck optimalere Bedingungen

der Hydrolyse geschaffen werden? Auch die größere und geringere Widerstandsfähigkeit der Milzbrandsporen gegenüber der Einwirkung der verschiedenen Säuren erklärt sich spielend bei Berücksichtigung ihres chemischen Aufbaues. Wir kommen hierauf ebenfalls noch zurück.

Auch bei der Alkoholdesinfektion ist es noch mehr als fraglich, ob nur physikalische Prozesse den Zelltod durch Koagulation der Proteide bedingen, wenn sie auch hier sicherlich im Vordergrunde stehen. Bei einer Nukleinsäurefällung in natriumazetathaltigem Alkohol konnte ich phosphorsäurehaltige Nukleinsäurebruchstücke im Alkohol inzwischen nachweisen!

Kehren wir nun nochmals zum Sublimat zurück. Da das Sublimat kraft seiner Wasserlöslichkeit auch mit den Zellkernnukleoproteiden chemisch zu reagieren vermag, bei jenen Bakterien, deren Kern sich nicht aus Karyoproteiden, sondern aus Nukleoproteiden (Gonococcus) aufbaut, so brauchen wir uns auch nicht zu wundern, daß es das beste Metallsalz für den Desinfektionsprozeß ist, das wir bis jetzt kennen. Es muß aus diesem Grunde auch auf alle Bakterienarten wirken.

Die gute Wirkung des Phenols wird uns dann auch verständlich. Da seine Lipoidlöslichkeit eine höhere als seine Wasserlöslichkeit ist, wird es ebenfalls auch aus hohen wässerigen Verdünnungen elektiv von den Karyoproteiden der Bakterienkerne gespeichert werden müssen, wodurch der Zelltod eintritt, wenn auch hierbei die Frage noch offen bleiben soll, ob hier lediglich physikalisch-chemische oder ebenfalls rein chemische Vorgänge letzten Endes für den Zelltod verantwortlich zu machen sind. Die Unwirksamkeit der öligen Phenollösung erklärt sich unter Berücksichtigung der Karyoproteidnatur der Bakterienkerne von selbst. Das Kernlipoid vermag das Phenol zwar aus wässeriger Lösung zu speichern (Desinfektion), nicht mehr aber aus öliger (Fehlen der Desinfektion).

Betrachten wir ferner die Desinfektionskraft der Farbstoffe, so sehen wir, daß den sauren meist gar keine desinfizierenden Eigenschaften zukommen, womit in Uebereinstimmung steht, daß ich sie fast ohne Ausnahme nicht lipoidlöslich gefunden habe. Dagegen sehen wir gerade die lipoidlöslichsten am besten desinfektorisch wirksam, Methylenblau, Phosphin und das dazugehörige Trypaflavin und Rivanol, noch stärker wirksam die optimal lipoidlöslichen Farbstoffe der Fuchsinreihe: Fuchsin, Viktoriablau, Malachitgrün, Gentianaviolett, weil diese letzteren aus ihren wässerigen Lösungen besonders gut von den Karyoproteiden der Bakterienkerne gespeichert werden, wobei chemisch, im Falle der Fuchsinbehandlung, in diesen karyoninsaures Fuchsin sich bildet, und da, wo der Farbstoff auf gleichzeitig vorhandene Nukleoproteide trifft, auch nukleinsaures Fuchsin entsteht, was ich durch den Nachweis der Chlorabspaltung anderenorts bewiesen habe.

Ehe wir zur Beweisführung schreiten, müssen wir kurz auf einige Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung zu sprechen kommen. Wir wissen, daß das Fuchsin beispielsweise ein basischer Farbstoff ist und ihm ebenso wie dem Gentianaviolett schwach antiseptische Eigenschaften zukommen. Führen wir aber in das Fuchsinmolekül eine SO_3H-Gruppe ein, so entsteht ein saurer Farbstoff, das Säurefuchsin, dem keine desinfizierende Eigenschaft mehr zukommt. Wir sehen ferner Phenol stark desinfizierend wirken, das eine Karboxylgruppe tragende Phenol,

die Salizylsäure, bereits erheblich schwächer abtötende Eigenschaften für Bakterien besitzen, und wissen ferner, daß die Einführung einer SO_3H-Gruppe in das Phenol, womit wir zur Phenolsulfosäure gelangen, die Desinfektionskraft des Phenols völlig vernichtet, sofern wir deren Natriumsalz untersuchten[1]). Dieses allgemein gültige Gesetz fassen wir jetzt zusammen in den Worten: Im allgemeinen sind die aromatischen Kohlenwasserstoffe und Phenole für den Tierkörper viel giftiger als die zugehörigen Karbonsäuren, d. h. durch den Eintritt der Karboxylgruppe in die aromatischen Verbindungen wird ebenso wie durch den Eintritt einer Sulfosäuregruppe die Giftigkeit herabgesetzt oder ganz vernichtet[2]).

Wir wissen also, daß wir durch Einführung saurer Gruppen die desinfizierenden Eigenschaften vieler Kohlenstoffverbindungen herabsetzen resp. vernichten können, kennen bis jetzt aber nicht alle Ursachen dieser Gesetze[3]). Gehen wir diesen Ursachen nach, so müssen wir unser Augenmerk auf die Lipoidlöslichkeit dieser Stoffe richten. Prüfen wir beispielsweise die Lipoidlöslichkeit einer wässerigen Fuchsinlösung 1:1000, indem wir gleiche Teile Fuchsinlösung und eine $^1/_2$proz. Lezithinätherlösung ordentlich schütteln und alsdann zentrifugieren, so sehen wir, daß das Fuchsin außerordentlich gut lipoidlöslich ist, was wir daran erkennen, daß jetzt der ganze Aether rot geworden ist und einen großen Teil des Farbstoffes der wässerigen Lösung entzogen hat. Verfahren wir ebenso mit Säurefuchsin, so finden wir, daß die vorgenommene Sulfurierung nicht nur eine Veränderung der chemischen Konstitution gesetzt hat, sondern daß gleichzeitig auch die physikalischen Eigenschaften der ursprünglichen Verbindung ganz wesentlich geändert worden sind, da das Säurefuchsin lipoidunlöslich ist, was wir daran erkennen, daß der Lezithinäther jetzt farblos bleibt, im Gegensatz zum Verhalten beim Fuchsinversuch. Wir können auf die gleiche Weise nachweisen, daß Rosanilinblau lipoidlöslich ist, das Natriumsalz seines doppelt sulfurierten Produktes aber, das Wasserblau, absolut lipoidunlöslich geworden ist. Dazwischen steht das Natriumsalz des monosulfurierten Produktes, das Alkaliblau 3 B, das noch etwas lipoidlöslich ist, was man an der hellblauen Farbe des Lezithinäthers erkennt. Mit zunehmender Säuerung erkennen wir also abnehmende Lipoidlöslichkeit und zunehmende Wasserlöslichkeit, damit Hand in Hand gehend abnehmende oder verschwindende Desinfektionskraft. Aehnliche Verhältnisse finden wir beim Phenol wieder. Phenol stark lipoidlöslich und wenig wasserlöslich: starke Desinfektionskraft, karboxyliertes Phenol (Salizylsäure) etwas geringere Lipoidlöslichkeit, etwas zunehmende Wasserlöslichkeit: mittelstarke Desinfek-

1) Der freien Säure kommt aber nach den Beobachtungen von Hailer noch eine gewisse Desinfektionswirkung zu, die aber hier durch die Säurenatur der Substanz bedingt wird.

2) Zit. nach S. Fränkel, Die Arzneimittelsynthese. 5. Aufl. Berlin (J. Springer) 1921. S. 103.

3) Die Lipoidlöslichkeit des Fuchsins und die Lipoidunlöslichkeit des Säurefuchsins waren schon Ehrlich und Overton bekannt, auch Eisenberg erwähnt sie in einer Arbeit (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. S. 471). Nach Hailer spielt die chemische Konstitution bei anorganischen Stoffen im übrigen eine Rolle nur, insofern sie das physikalische Verhalten des Stoffes in der Lösung, nämlich die Quellwirkung, Oberflächenspannung, Lipoidlöslichkeit, katalytische Kraft beeinflußt.

tionskraft, sulfuriertes Phenol (Phenolsulfosäure) Lipoidunlöslichkeit, starke Wasserlöslichkeit: Fehlen der Desinfektionskraft mit der oben erwähnten Einschränkung der freien Säure. Man kann die Abnahme der Lipoidlöslichkeit sehr schön mit der Eisenchloridprobe an den entsprechenden, mit den erwähnten Substanzen geschüttelten Lezithinätherlösungen feststellen, worauf in einer besonderen Arbeit noch näher eingegangen werden soll.

Wir erkennen daher jetzt die Ursache des oben erwähnten Gesetzes des Schwächerwerdens resp. der erlöschenden Desinfektionskraft organischer Substanzen bei Einführung saurer Gruppen: Die Einführung einer COOH- resp. einer SO_3H-Gruppe schafft nicht nur **chemische** Veränderungen, die sich in der Konstitutionsform des neu entstandenen Körpers äußern, sondern **gleichzeitig** auch **physikalische Veränderungen**, und zwar eine abnehmende oder erlöschende Lipoidlöslichkeit und eine bessere oder sehr starke Wasserlöslichkeit bei Karboxylierung, resp. Sulfurierung. Mit der Veränderung der chemischen Konstitution wird demnach gleichzeitig auch die physikalische Eigenschaft eines Körpers verändert. Die zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung eines Stoffes beobachteten Zusammenhänge sind daher größtenteils Beziehungen zwischen den physikalischen Eigenschaften dieses Stoffes und seiner pharmakologischen Wirkung. Bisher ist aber meines Wissens noch nicht darauf hingewiesen worden, daß die Karboxylierung oder Monosulfurierung eines organischen Stoffes der aromatischen Reihe die Lipoidlöslichkeit desselben verringert, eine mehrfache Sulfurierung diese aber vernichtet und damit parallel gehend auch dessen desinfizierende Eigenschaften beeinflußt.

Durch die eingetretene Sulfurierung im Fuchsin beispielsweise ist nicht nur physikalisch die Vorbedingung für die elektive Speicherung des entstandenen Säurefuchsins durch die Bakterienkernlipoide verschwunden, wodurch es sekundär zur entscheidenden abtötenden Phase, der Salzbildung, nicht mehr kommen kann, sondern diese kann auch aus dem Grunde nicht mehr erfolgen, da die Sulfurierung gleichzeitig zur Folge hat, daß jetzt ein saurer Körper entstanden ist, der weder eine chemische Affinität mehr zu den sauren Karyo- und Lipoproteiden, als auch zu den ebenfalls sauren Nukleoproteiden hat, bei jenen Mikroorganismen, deren Kerne Nukleoproteid führen. Auch viele andere Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung sind jetzt in ihrem Zusammenhang bekannt.

Nach diesen Ausführungen über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung müssen wir nun zum Beweis unserer oben aufgestellten Theorie schreiten, die besagt, daß nur solche Stoffe gute Desinfektionsmittel sind, die eine höhere Lipoid- als Wasserlöslichkeit besitzen. Fernerhin haben wir noch zu beweisen, daß die Lipoidlöslichkeit allein für die Desinfektionswirkung nicht in Frage kommt, sondern daß es hierzu sekundär der Salzbildung bedarf zwischen dem Desinfektionsmittel einerseits und den Kerninhaltsstoffen der Bakterienzelle andererseits. Betrachten wir uns daraufhin alle unsere guten Desinfektionsmittel, so sehen wir, daß sie alle relativ schwer in Wasser, aber gut in Lipoiden löslich sind[1]).

1) Beispiel: Sublimat, Phenol, Salizylsäure, Chinin.

Zur Feststellung der Reaktionen eines Stoffes mit den Lipoiden bedienen wir uns aber nicht der bis jetzt allgemein üblichen Untersuchung der Löslichkeit eines Stoffes in Aether, sondern nehmen hierzu eine Lezithinätherlösung, da nur diese allein uns vor Fehlschlüssen bewahrt und uns eine stattfindende Reaktion zwischen einem lipoidunlöslichen chemischen Stoff und Lipoiden oder Lipoproteiden nicht entgehen läßt.

Wir sehen beispielsweise, daß das Silbernitrat in Aether fast unlöslich ist, sehen aber, daß eine Lezithinätherlösung fast restlos einer wässerigen Silbernitratlösung das Silber entzieht, wenn wir sie damit ordentlich schütteln, zentrifugieren und mit Schwefelwasserstoffwasser versetzen. Wir erkennen alsdann, daß das ganze Silber in dem Lezithinäther offenbar als Silbersalz des Lezithins sitzt (Taf. I. Abb. 1), und können weiterhin sehr schön zeigen, daß ammoniakalische Silbernitratlösungen bekannterweise bereits weniger stark dissoziiert und daher auch desinfektorisch weniger wirksam sind, bedeutend schlechter in den Lezithinäther übergehen. Je höher der Ammoniakgehalt wird, um so mehr Silber bleibt in der wässerigen Phase der Reaktion mit dem Lezithin entzogen (Taf. I. Abb. 2, 3 u. 4). Nach Zentrifugieren hat sich hierbei auch in der wässerigen Flüssigkeit ein größerer Niederschlag von Schwefelsilber gebildet, als wenn wir hierzu nur das gewöhnliche Silbernitrat verwendet haben. Auch die sicherlich eine gute Desinfektionswirkung zeigenden Chloride des Osmiums und Rutheniums gehen bei dieser Versuchsanordnung restlos in den Lezithinäther über (Taf. I. Abb. 6 u. 7), die Kupferionen des Kupfersulfates dagegen nur sehr viel weniger, was man an der geringen Braunschwarzfärbung des Lezithinäthers erkennt, sobald man ihn nach Zentrifugieren mit Schwefelwasserstoffwasser versetzt (Taf. I. Abb. 5).

Das typische Beispiel dafür, daß es die Lipoidlöslichkeit eines Stoffes allein nicht sein kann, die den Zelltod lediglich auf kolloidalchemischem Wege zur Folge hat, ist das Salvarsan. Das Salvarsan vermag mit den Lipoiden in Reaktion zu treten und ist trotzdem in höheren Verdünnungen wirkungslos auf Spirochäten und Bakterien in vitro. Trotzdem das Salvarsan mit den Lipoiden in Reaktion zu treten vermag, wie man das erkennen kann, wenn man eine wässerige Salvarsanlösung mit Lezithinäther schüttelt und mit ammoniakalischer Silbernitratlösung nachbehandelt, kommt es dennoch nicht zu einer elektiven Speicherung des intakten Salvarsans durch die Zellipoproteide, weshalb man Hefezellen beispielsweise, die längere Zeit mit einer 1proz. alkalisierten Salvarsanlösung in Berührung gewesen waren, das ganze Salvarsan durch Waschen mit dest. Wasser in der Zentrifuge wieder entziehen kann[1]). Verwenden wir hierzu jedoch die fast wasserunlösliche, aber stärker lipoproteidlösliche Salvarsanbase und waschen jetzt die Zellen, nachdem wir sie ordentlich damit geschüttelt und 1 Std. lang stehen gelassen hatten, so bleibt das Salvarsan jetzt an die Zellen gebunden, was man sehr schön daran erkennt, daß, im Gegensatz zu der Behandlung der Hefezellen mit gewöhnlichem Salvarsan, alle Zellen tiefbraun gefärbt erscheinen, wenn man sie nach ihrer Waschung mit ammonia-

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 207; s. auch „Ergebnisse der Syphilisforschung“ (Derm. Woch. 1925) u. Bioch. Ztschr. 1925. „Zum Chemismus der Salvarsanwirkung etc.“ Bd. 157. S. 438.

kalischer Silbernitratlösung zusammenbringt. Auch nach Alkoholbehandlung bleibt noch Salvarsan gebunden. Jetzt sehen wir auch eine prompte Wirkung auf die Mikroorganismen (Spirochäten) in vivo. Hiermit dürfte der Beweis geführt sein, daß zum Zustandekommen einer Abtötung von Mikroorganismen nicht nur eine höhere Lipoproteid-[1]) als Wasserlöslichkeit des angewendeten Mittels erforderlich ist, sondern daß es sekundär hierdurch auch zur Fixierung, d. i. Salzbildung kommen muß, was gleich noch zu beweisen sein wird. Beide Vorgänge hängen eng zusammen, da es zur Fixierung nur dann kommt, wie schon betont, wenn die Lipoproteidlöslichkeit eine höhere als die Wasserlöslichkeit ist.

Auch die Metallsalze dringen direkt in die lebende Zelle und nicht erst sekundär in die abgetötete ein, wie vielfach angenommen wird. Wir können das sehr schön am Beispiel des Osmium- und Rutheniumchlorids beweisen. Oben fanden wir, daß diese Stoffe außerordentlich gut mit den Lipoiden in Reaktion zu treten vermögen. Wir werden ferner gleich noch zeigen können, daß viele Zellen eine Lipoidmembran nicht mit Sicherheit besitzen. Aus diesem Grunde steht dem Eindringen des Osmium- und Rutheniumchlorids resp. dem seiner Ionen in die lebende Zelle auch kein Hindernis im Wege. Verreiben wir beispielsweise einen Tropfen einer 1proz. Lösung dieser Stoffe mit lebenden Leukozyten und beobachten im hängenden Tropfen, so erkennen wir, daß sich die Kerne braun resp. schwarz färben, und sehen gleichzeitig auch, daß sie ganz verschieden langer Zeit hierzu bedürfen, während man andererseits erkennt, daß tote Leukozytenkerne oder diejenigen künstlich abgetöteter Leukozyten sich momentan bräunen resp. schwärzen. Würde also der Einwand zu Recht bestehen, daß die Metallsalze erst auf physikalisch-chemischem Wege, beispielsweise durch Adsorption, quasi durch Umklammerung der Mikroorganismenzellen diese primär zum Absterben bringen und dann erst die Metallionen sekundär in die bereits abgestorbene Bakterienzelle eindringen, dann müßten bei unserem oben angeführten Versuch früher oder später im Momente der Abtötung plötzlich alle Leukozytenkerne zu gleicher Zeit sich bräunen oder schwärzen, was aber nicht der Fall ist. Gerade die verschieden rasche Bräunung resp. Schwärzung der Leukozytenkerne in einem solchen Präparat und ihre ihrem Nukleinsäuregehalt entsprechende stärkere oder geringere Bräunung scheint mir zu beweisen, daß die Metallionen in die lebende Zelle eindringen und durch die eintretende Salzbildung mit der Nukleinsäure, resp. den Kernlipoiden die Abtötung der Zelle erfolgt[2]).

---

1) Lipoproteid- und Lipoidlöslichkeit sind übrigens nicht identisch. So wird die Viktoriablaubase zwar von den Lipoproteiden elektiv gespeichert und bildet mit ihnen das betreffende Farbsalz, Cholesterin dagegen vermag die Viktoriablaubase nicht elektiv zu speichern und bildet mit ihr auch kein Farbsalz, was dadurch bewiesen wird, daß Cholesterin die Farbbase in derselben Menge unter roter Farbe löst wie gewöhnlicher Aether. Eine Salzbildung ist ja auch nicht wahrscheinlich, da Cholesterin ein Alkohol ist. Aus diesem Grunde färben sich auch die roten Blutkörperchen nicht blau, wenn man frisches Blut mit der Viktoriablaubase zusammenbringt, sondern nur einzig und allein die Lipoproteide. Daher bläuen sich in einem solchen Versuch nur die Parasiten und das lipoproteidhaltige Protoplasma der weißen Blutkörperchen.

2) S. auch Schumacher, Silberionen und Zelle. (Vortr. v. d. Berl. Med. Ges. Jan. 1922; Med. Klin. 1922. S. 159 ff.)

Erkennen wir auch am Beispiel des Salvarsans und der Salvarsanbase, daß die Lipoidlöslichkeit allein zur Abtötung einer Mikroorganismenzelle **nicht** ausreicht, und daß die Abtötung der Zelle erst dann eintritt, wenn die Pharmaka in der Zelle fixiert werden, so ist damit aber noch nicht bewiesen, daß es bei der elektiven Speicherung des Desinfektionsmittels in der Zelle und deren Abtötung zu einer **Salzbildung** gekommen ist, was wir jetzt zu beweisen haben.

Hierzu müssen wir uns einer besonderen Versuchsanordnung bedienen und nehmen hierzu eine Base, die erstens einmal stärker lipoid- als wasserlöslich resp. praktisch wasserunlöslich ist und deren Salze zweitens eine andere Farbe besitzen als die zur Salzbildung fähige Substanz: Die **Base** des Viktoriablaus.

Wir stellen uns hierzu die Viktoriablaubase **frisch** dar, indem wir zu 10 ccm einer 1proz. wässerigen Lösung von Viktoriablau B (Taf. I. Abb. 8) 1 ccm einer 10proz. Sodalösung geben und umschütteln, worauf die dunkelrotbraune Base ausfällt (Taf. I. Abb. 9). Wir zentrifugieren ab und erhalten alsdann die Base am Boden des Zentrifugenröhrchens, die überstehende Flüssigkeit ist nicht mehr blau gefärbt, sondern farblos ((Taf. I. Abb. 10). Die absolute Wasserunlöslichkeit der Viktoriablaubase erkennen wir einmal daran, daß das Filtrat absolut wasserklar und nicht mehr blau gefärbt abläuft (Taf. I. Abb. 11), andererseits daran, daß auch Säurezusatz zum Filtrat keine blaue Farbe auftreten läßt (Taf. I. Abb. 12), was der Fall sein müßte, wären nennenswerte Mengen der Viktoriablaubase in wässeriger Lösung im Filtrat vorhanden. Lediglich wenn wir das Reagenzglas durch die Flüssigkeitssäule hindurch auf einer weißen Unterlage betrachten, erkennen wir einen ganz schwachen hellblauen Schimmer. Waschen wir dagegen längere Zeit, bis das Alkali verschwindet, so finden wir etwas Viktoriablaubase mit rötlicher Farbe im Waschwasser. Geben wir aber nur 3 Tropfen konzentrierte Essigsäure auf 100 Wasser hinzu und gießen diese stark verdünnte Essigsäurelösung über die auf dem Filter befindliche Viktoriablaubase, so läuft das Filtrat jetzt blau gefärbt ab (Taf. I. Abb. 13), da sich das wasserlösliche, blaugefärbte, essigsaure Salz der Viktoriablaubase gebildet hat. Nehmen wir die Essigsäurelösung 10mal so dünn, so erhalten wir eine hellere blaue Farbe (Taf. I. Abb. 14). Abb. 15 zeigt den roten Ton an, mit dem sich die Viktoriablaubase in Aether, Xylol und Eukalyptol löst.

Zum Nachweis der entstehenden Salzbildung bei der Desinfektion verreiben wir die nach der eben beschriebenen Technik erhaltene frisch gefällte, aber vorher auf dem Filter **ordentlich mit dest. Wasser gewaschene** Base mit 5 g in 10 ccm dest. Wasser fein suspendierter Hefe. Lassen wir bis zum nächsten Tage stehen, so ist die mikroskopisch rotviolett aussehende Base restlos verschwunden, die Zellen sind sämtlich rein blau geworden und nach Zentrifugieren ist die überstehende Flüssigkeit absolut farblos. Fertigen wir uns einen hängenden Tropfen an, indem wir in einem neuen Versuch einen Tropfen mittelstarker Hefesuspension mit einer Platinöse voll Viktoriablaubase verreiben, und mikroskopieren **sofort**, so erkennen wir neben den rötlich bis tiefviolett aussehenden Schollen der Viktoriablaubase, daß sich nur einige Hefezellen ganz schwach blau gefärbt haben und nur in der Umgebung der Viktoriablaubase (Taf. II. Abb. 1a). Nach 10 Minuten ist bereits eine größere Anzahl von Hefezellen blau geworden (Abb. 1b, ebendort), nach einer $^1/_2$ Std. noch mehr (Abb. 1c, ebendort), die jetzt auch teilweise tiefblau geworden sind, und nach 24 Stunden erkennen wir fast alle Hefezellen je nach ihrem Lipoidgehalt tiefblau oder weniger blau gefärbt. Außerdem sieht man sehr deutlich, daß sich nur der Zellinhalt gebläut hat, **die Zellmembran jedoch absolut farblos ist** und sich gut als völlig farblos erscheinende, doppelt konturierte Membran von dem tief gefärbten Zellinhalt abhebt. Die äußere „Schleimschicht“

der älteren Autoren, die der doppelt konturierten Membran aufliegt, färbt sich als ganz feiner Saum ebenfalls blau. In ihr haben wir das eigentliche Ektoplasma im wahren Sinne des Wortes zu erkennen[1]) (Taf. II. Abb. 1d und Taf. I. Abb. a, vergrößerter Maßstab)[2]). Bei stark sporenhaltiger Hefe (24 Std. lange Einwirkung der Viktoriablaubase) ist die Anzahl der auftretenden tiefblau gefärbten Zellen bedeutend geringer als bei einer frischen Kultur. Die Sporen selbst verhalten sich ebenfalls nicht alle gleich, einige sind etwas stärker, die meisten nur schwach gebläut. Die blaue Farbe erreicht nie das Tiefblau der frischen vegetativen Formen. Dabei beobachtet man stets, daß sich die Zwischensubstanz in den einzelnen Sporen zuerst bläut und jede Spore im Gegensatz zu den vegetativen Formen einen tiefblau gefärbten Rand besitzt, der die einzelne Spore umgibt. Sämtliche Sporen werden alsdann nochmals von einer doppelt konturierten, ungefärbten Zellmembran umgeben, der ihrerseits nochmals eine zarte äußere Schicht (Kittsubstanz) als dünnes blau gefärbtes Gebilde aufliegt (Taf. II. Abb. 2c, Vergr. 1:555, und Taf. I, Abb. b—d). Dort erkennt man auch, daß in Hungerkulturen (die Hefe stand mehrere Tage im zugedeckten Becherglas zur Sporenbildung) nicht alle Zellen mehr Lipoide enthalten, aber auch in der Kittsubstanz sich noch schwach bläuen. Da hier in der Kittsubstanz sich die Zellen mit der Viktoriablaubase! vital! noch bläuen, müssen hier noch Lipoide zugegen sein, weshalb der alte Name „Schleimschicht" nicht ganz den Tatsachen entsprechen dürfte. Die Hefezellmembran enthält daher sicherlich keine sauren Lipoide oder Lipoproteide im Gegensatz zur Zellmembran der Hefespore, an welcher wir reichlich saure Lipoproteide mit der Färbung der Viktoriablaubase erkennen. Weiterhin kann man das gleiche Verhalten wie bei den vegetativen Zellformen der Hefe auch für die Milzbrandbazillen feststellen, bei denen sich nur der Zellinhalt bläut (Taf. II. Abb. 2a). In einem mit Viktoriablaubase versetzten Gonorrhoeeiter bläut sich der exquisiten Lipoproteidlöslichkeit der Viktoriablaubase wegen nur das in den Leukozyten diffus vorhandene Lipoproteid derselben, der Nukleoproteid führende Kern färbt sich dagegen nicht, jedoch sind die ebenfalls ein gramnegatives Lipoproteid enthaltenden Gonokokken auch stark blau gefärbt (Taf. II. Abb. 2b). Aus demselben Grunde ihres Lipoideiweißgehaltes wegen färben sich auch Recurrensspirochäten und hauptsächlich der Kern der Trypanosomen tiefblau bei der Vitalfärbung mit

---

1) Um nicht neue Verwirrung zu stiften, bezeichne ich fernerhin diese äußerste Zellschicht als Kittsubstanz, die sie in Wirklichkeit auch darstellt. Die Bezeichnung Ektoplasma vermeide ich absichtlich, da schon Eisenberg und Gutstein für verschiedene Dinge dieselbe Bezeichnung „Ektoplasma" gebrauchen (Eisenberg versteht darunter die Rindenschicht des Zytoplasmas, Gutstein die mit Tannin-Safranin darstellbare Zellmembran), und beide Autoren diese äußerste Schicht noch nicht gesehen haben, da sie beide mit fixiertem Zellmaterial arbeiten und die Kittsubstanz nur am lebenden Objekt oder bei Färbung in vitro darstellbar ist. Beweis: Man erkennt niemals einwandfrei die blau gefärbte Kittsubstanz bei der Viktoriablaufärbung an hitzefixierten Zellen durch die farblose Zellmembran vom Endoplasma getrennt, wohl aber bei der Vitalfärbung mit der Viktoriablaubase. Man erkennt sie ebenfalls in keiner Weise einwandfrei durch die farblose Zellmembran vom Endoplasma getrennt bei der gewöhnlichen Gramfärbung der fixierten Zelle, sofort aber, wenn man die Gramfärbung in vitro vornimmt (s. auch Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. S. 564. Abs. 2).

2) Sämtliche Tafeln wurden während des Vortrages demonstriert.

der Viktoriablaubase[1]). Heubazillen und Milzbrandsporen färben sich im hängenden Tropfen auch nach 24 Std. und länger nicht nennswert blau. Der ganz schwach himmelblau oder oft gänzlich farblose Sporeninhalt wird aber von einer blau gefärbten Membran umgeben, die wie die Untersuchung an toten Zellen bereits gezeigt hat (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S 237/238), aus einem Lipoproteid besteht, womit sich ohne weiteres auch das Tiefblauwerden der Sporen bei der Vitalfärbung mit der Viktoriablaubase erklärt. Aus der Tatsache, daß sich auch nur die Zellipoproteide blau färben, die Färbung mit der Viktoriablaubase! ferner ihrer exquisiten Lipoidlöslichkeit wegen auch für das Vorliegen von Lipoiden und Lipoproteiden beweisend ist, welche Zellinhaltsstoffe wir übrigens in der Hefe ja längst nachgewiesen haben, und aus der Tatsache, daß sich am Beispiel des Gonorrhoeeiters die Nukleoproteide der Leukozytenkerne der exquisiten Lipoidlöslichkeit der Viktoriablaubase wegen nicht färben, die Hefe- und Milzbrandzellmembran hierbei aber samt den Septen zwischen den einzelnen Bazillen sich ebenfalls nicht bläut, sondern als weiß ausgesparte, doppelt konturierte Membran erscheint, glaube ich schließen zu dürfen, daß am Aufbau der Zellmembran vieler Mikroorganismen, wenigstens derjenigen der vegetativen Formen der Hefe und des Milzbrandbazillus, weder Lezithine, Zerebroside Lipoproteide noch andere Phosphatide beteiligt sein können, da sich alle drei Kategorien von Zellinhaltsstoffen mit Viktoriablau und dessen Base stark färben[2]). Es können daher, wenn überhaupt Lipoide am Aufbau der Zellmembran der eben angeführten zwei Mikroorganismen beteiligt sind, hierfür nur Stoffe in Frage kommen, die mit Viktoriablau nicht in Reaktion zu treten vermögen: der Alkohol Cholesterin und seine Ester, deren Nachweis in der Zellmembran aber noch aussteht. Dagegen zeigt die positive Färbung der „Schleimschicht", unserer Kittsubstanz, daß hier geringe Mengen von Substanzen vorkommen, die Lezithine, Phosphatide, Zerebroside oder deren Eiweißverbindungen enthalten, wie wir schon betonten. Da auch nicht lipoidlösliche, wasserlösliche Stoffe in die Zelle erfahrungsgemäß gelangen, so kann für den Aufbau der Zellmembran, sofern ein Lipoid daran beteiligt ist, wie beispielsweise bei den Sporen des Heu- und Milzbrandbazillus und auch bei der Membran der vegetativen Formen von Sarcina agilis nur ein Lipoid in Frage kommen, das außerdem mit Wasser zu quellen vermag. Solche Stoffe müssen wir bei den Phosphatiden, namentlich dem Sphingomyelin oder den Zerebrosiden suchen. Wenn auch die mangelnde Färbbarkeit der erwähnten Membranen der vegetativen Formen mit Viktoriablau gegen das Vorkommen solcher Stoffe in ihnen spricht, so müssen wir aber dennoch an die Möglichkeit des Vorkommens solcher Körper denken, deren Eigenschaften uns noch nicht genügend bekannt sein könnten. Wir hätten dann aber deren Bausteine nachzuweisen, ehe wir mit Sicherheit den Schluß ziehen dürften, daß tatsächlich Lipoide am Aufbau der Zellmembran der vegetativen Hefe beteiligt sind. Wir kommen darauf bei anderer Gelegenheit noch zurück. Dagegen spricht der in unseren Präparaten beobachtete blaue Ring um

1) Von einer „Vitalfärbung" aller dieser Mikroorganismen kann man naturgemäß höchstens im Beginn der Einwirkung der Viktoriablaubase sprechen, da späterhin durch ihre Einwirkung die betreffenden Zellen absterben.

2) Ich darf vielleicht nochmals erwähnen: Die Salze des Viktoriablaus färben Lipoide, Lipo- und Nukleoproteide, die Base färbt nur Lipoide und Lipoproteide.

die Sporen für das Vorliegen einer Lipoidmembran bei den Dauerformen vieler Mikroorganismen. Damit erklärt sich wohl zwanglos auch das rasche Eindringen wässeriger Desinfektionsmittel, beispielsweise einer Sublimatlösung in die vegetativen Formen der Mikroorganismen, wodurch deren rasches Absterben bedingt wird, und das ganz erhebliche langsamere Eindringen dieser Desinfektionsmittel in das Innere der Sporen. Es kommt dort erst viel später zur Salzbildung und damit zum Zelltod zwischen den lipoidhaltigen Sporenkernen und der Viktoriablaubase, weil das ganze eindringende Desinfektionsmittel, im Falle des Viktoriablaus sichtbar, am Beispiel des Sublimats unsichtbar, zuerst elektiv von der lipoidhaltigen Sporenmembran gebunden wird und auf diese Weise der Sporenkern längere Zeit vor der Vernichtung des Desinfektionsmittels geschützt wird. Auch in der Sporenmembran muß ein Salz des Desinfektionsmittels entstehen, wie die Blaufärbung der Sporen am Beispiel des Desinfektionsversuches mit der Viktoriablaubase beweist. Das in der Sporenmembran entstehende Salz des Desinfektionsmittels, beispielsweise das lipoidsaure Viktoriablau bildet offenbar einen dichten Wall, der das Eindringen von weiteren Molekülen der Viktoriablaubase einige Zeit, bei hohen Verdünnungen des Desinfektionsmittels dauernd verhindert. Ein ähnliches Beispiel haben wir bei der Zellkernfärbung. Hier entsteht bei der Färbung das nukleinsaure Farbsalz als Niederschlag, der ein weiteres Vordringen des Farbstoffes verhindert, wie das aus makrochemischen Versuchen von Steudel und Osako hervorgeht. Die Umsetzung zwischen Nukleinsäure und Farbbase erfolgt hierbei nicht quantitativ. In den vegetativen Formen erreicht das Desinfektionsmittel offenbar rasch den Bakterienkern, der Zelltod muß relativ rasch eintreten, bei den Sporen erreicht das Desinfektionsmittel dagegen des schützenden Walles einer Lipoidmembran wegen nur langsam den Sporenkern, weshalb der Zelltod hier erheblich später eintreten muß als bei den vegetativen Formen, womit die Ergebnisse der auf empirischem Wege gewonnenen Desinfektionserfolge übereinstimmen dürften.

Wir können daher bis jetzt nicht bei allen Mikroorganismen das Vorkommen einer lipoidhaltigen Zellmembran als erwiesen ansehen und die Overtonsche Theorie im strengen Sinne des Wortes einer lipoidhaltigen Zellmembran nur für die Sporen und einige andere vegetative Formen (Sarcina agilis) als zu Recht bestehend und hier als bewiesen betrachten. In anderen Fällen (vegetative Formen der Hefe) sitzt der sicher nicht lipoidhaltigen Zellmembran eine feine Schicht auf, die Kittsubstanz, die mit Wasser quellbare Lipoide, Phosphatide oder deren Eiweißverbindungen enthalten dürfte. In erster Linie dürfte chemisch hierfür das mit Wasser unter Emulsionsbildung quellbare Sphingomyelin[1]) in Frage kommen. Durch das Vorhandensein der lipoidhaltigen Kittsubstanz erhält die Overtonsche Theorie aber dennoch Geltung für alle Mikroorganismen. Schon Eisenberg (Ueber die Wirkung von Farbstoffen auf Bakterien, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71) erwähnt, daß

---

1) Inzwischen bewiesen. S. Das Ektoplasma der Bakterien. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Hefezellmembran und der Kittsubstanz der Hefe, Chemie der Zelle und Gewebe. (Ztschr. f. d. Probleme d. Gärung etc. 1925/26.) (Im Erscheinen.)

bei der üblichen Bakterienfärbung die Membran gewöhnlich ungefärbt bleibt, obzwar sie augenscheinlich den Transport des Farbstoffes ins Innere der Bakterienzelle ermöglicht. Anerkannt muß werden, daß sich die Overtonsche Theorie als eine außerordentlich fruchtbare Arbeitshypothese für die Desinfektionslehre erwiesen hat. Gleichzeitig möchte ich hier an einem Beispiel nicht zu erwähnen vergessen, von welch außerordentlicher Bedeutung für die ganze Desinfektionslehre die Tatsache war, daß hier durch Overton mit zum ersten Male ein histochemisches Prinzip in die ganze Untersuchungsmethodik eingeführt wurde, wenn seine Lehren auch nur auf hypothetischer Basis fundiert waren. Das Verdienst Overtons, durch seine einst aufgestellte Arbeitshypothese die Wissenschaft ganz außerordentlich gefördert zu haben, soll hierdurch in keiner Weise geschmälert werden.

Hier ist auch der Ort, wo einmal auf eine mir bis vor kurzem unbekannte Ansicht eingegangen werden muß, die mir aber sehr wichtig erscheint. Eisenberg (l. c.) schreibt 1913 dort: „Ein anderes Problem, ebenfalls von ganz hervorragender Bedeutung, wäre endlich die Mikrochemie der Bakterienzelle, soweit sie mit Hilfe der Anilinfarben gefördert werden kann — leider noch immer ein frommer Wunsch und ein Gebiet für zukünftige Forschung."

Kehren wir nochmals zu dem Vorgang der Fixation des Viktoriablaus an die Mikroorganismenzelle zurück. Dieser Prozeß verläuft auf folgende Art. Die außerordentlich geringe Menge der fast in Wasser unlöslichen Viktoriablaubase wird elektiv von den Zellipo- und Karyoproteiden der lebenden Zellen[1]) gespeichert, wodurch es sekundär zur Fixierung, d. i. Salzbildung kommt. Dadurch wird das Lösungsgleichgewicht gestört, es gehen weitere Mengen der Viktoriablaubase automatisch wieder in Lösung, die wieder von den Zellipoproteiden gebunden werden, und das Spiel wiederholt sich von neuem so lange, bis alle Zellipo- und -Karyoproteide die ihnen zustehenden äquivalenten Mengen der Viktoriablaubase gebunden haben und alsdann blaugefärbt erscheinen. Man kann am Beispiel der Hefe- und Milzbranddesinfektion mit der Viktoriablaubase quasi den Verlauf einer Desinfektion unter dem Mikroskop verfolgen.

Die Viktoriablaubase gehört zu den sogenannten Imidbasen. Der Versuch gelingt aber auch mit der relativ sehr beständigen, absolut farblosen Base des Neufuchsins. Auch hierbei färben sich die Zellen im Tone der Salze dieser Base: rot. Die Nilblaubase eignet sich zur Beweisführung nicht, da sie zu leicht zersetzlich ist.

Hiermit glaube ich den Nachweis geführt zu haben, daß die Lipoidlöslichkeit eines Stoffes allein zur Desinfektion nicht ausreicht und daß es hierzu erforderlich ist, daß das Desinfektionsmittel in höherem Grade lipoid- resp. lipoproteid- als wasserlöslich sein muß, damit es zu einer elektiven Speicherung des Desinfektionsmittels in den Kern- und übrigen Zellipoiden der Mikroorganismen kommt. Das erscheint mir das Entscheidende bei der Desinfektion zu sein, wie

---

1) Bei einer Färbung nach bereits eingetretenem Zelltod müßten einmal alle Zellen ungefähr gleich blau gefärbt erscheinen, außerdem die Bläuung zu derselben Zeit eintreten, was aber nicht der Fall ist. Es ist auch nicht anzunehmen, daß die Zellen durch die vorhandene außerordentlich geringe Konzentration von 1 : 1 000 000 der Viktoriablaubase sofort abgetötet werden.

schon betont. Fernerhin erscheint mir durch diese Versuchsanordnung auch der Beweis geführt, daß der Fixation des Desinfektionsmittels chemisch eine Salzbildung zugrunde liegt, der Desinfektionsprozeß selbst ein chemischer Vorgang ist. Das glaube ich durch die Tatsache bewiesen zu haben, daß die Hefelipoproteide und diejenigen der anderen Mikroorganismen sich blau färben, was nicht der Fall sein könnte, läge lediglich eine Adsorption der Viktoriablaubase vor.

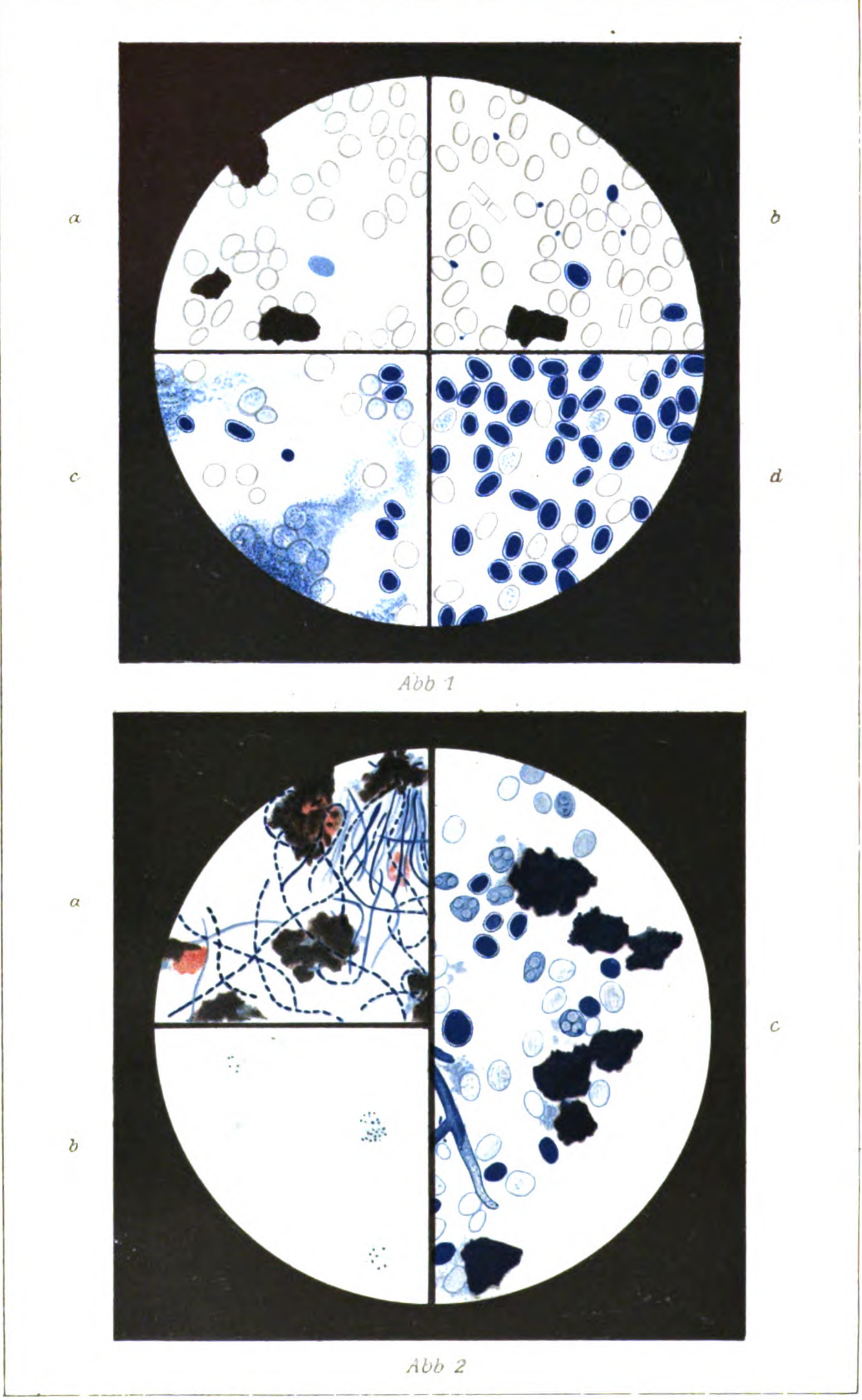
Die Erkenntnis, daß auch absolut in Wasser unlösliche Stoffe chemisch mit den Bakterien in Reaktion treten können und dort gebunden werden, wenn sie nur stärker lipoid- resp. lipoproteid- als wasserlöslich sind, erscheint mir außerordentlich bedeutungsvoll für die weitere Entwicklung der Chemotherapie zu sein. Wir dürften voraussichtlich in der Lage sein, einmal manchen Mitteln mit größerer Nebenwirkung diese teilweise zu nehmen, da bei wasserunlöslichen Desinfektionsmitteln die Reaktion in vivo mit den Nukleoproteiden der tierischen Zellkerne wegfällt, wodurch die Toxizität herabgesetzt werden dürfte, wenn wir uns auch keinen Illusionen hingeben wollen, daß diese Stoffe absolut ungiftig für den menschlichen Organismus sein werden. Das kann aus dem Grunde schon nicht der Fall sein, da die Zellen des tierischen Organismus ja ebenfalls Lipoide und Lipoproteide enthalten, die Zellkerne aber größtenteils frei davon sind. Außerdem wird es voraussichtlich möglich sein, mit viel geringeren Dosen auszukommen als bisher, da die Bakterien die stärker lipoidlöslichen Mittel ja elektiv zu speichern vermögen, wie wir gesehen haben. Die Injektion einer feinverteilten Suspension der Chininbase beispielsweise dürfte höchstwahrscheinlich ganz erheblich größere therapeutische Effekte entfalten als die Injektion ihrer noch wasserlöslichen Salze. Das sehen wir ja gerade aus den empirisch gewonnenen Desinfektionsergebnissen von Michaelis[1]), der zeigen konnte, daß die Chininsalze mit wechselndem pH desinfektorisch sich verschieden verhielten und die Desinfektionswirkung um so stärker ausfiel, je mehr seine Lösungen sich der alkalischen Reaktion näherten, je näher also der Ausfall der stärker lipoid- und lipoproteidlöslichen Chininbase bevorstand. Für das Salvarsan habe ich dafür ja außerdem schon den Beweis erbracht (13). Auch Hailer (14) erwähnt bereits, daß die Alkaloidbasen stärker auf Zellen wirken als ihre Salze (vermutlich infolge stärkeren Eindringvermögens).

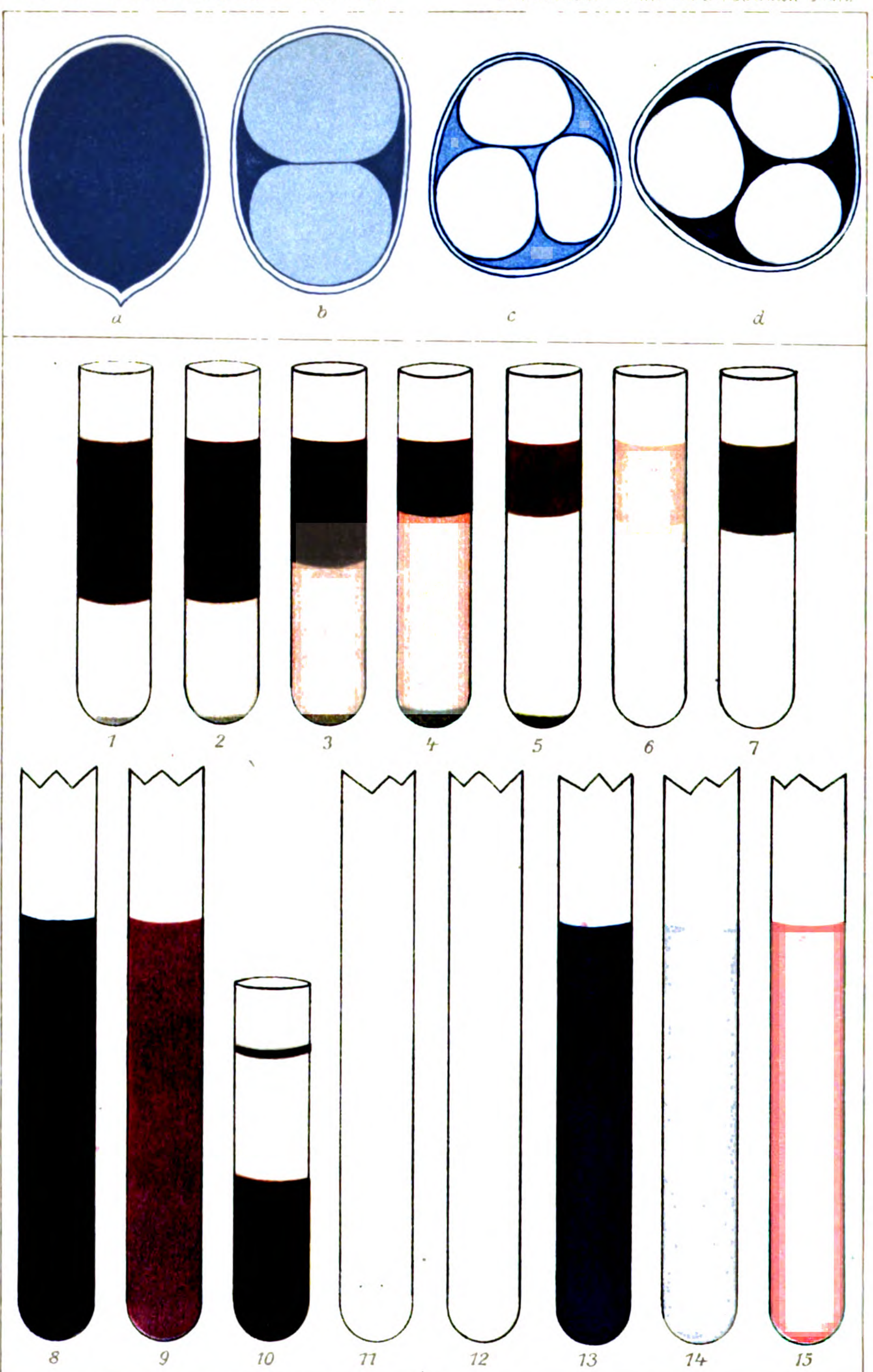
Literatur.

1) Krönig und Paul, Ztschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 25. 1897. — 2) Schumacher, a) Med. Klin. 1922. S. 159ff; b) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 84. — Liese u. Mendel, Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. 1923. S. 454ff. — 4) Schumacher, Biochem. Ztschr. Bd. 134. S. 398. — 5) Liese, Ztschr. f. Hyg. Bd. 102. 1924. S. 517 ff. — 6) Schumacher, a) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 73. S. 338; b) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 84. — 7) Höber, Physik. Chemie d. Zelle u. Gewebe. 4. Aufl. Leipzig (Engelmann). S. 447 ff. — 8) Krahe, Klin. Woch. 1924. No. 2. — 9) Schumacher, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 266 und ebenda S. 237. — 10) Gutstein, ebenda Bd. 93. S. 233. — 11) Schumacher, Ueber den Nachweis des Bakterienkerns und seine chemische Zusammensetzung. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. — 12) Heubner, Biochem. Ztschr. Bd. 145. 1924. S. 431. — 13) Schumacher, Ergebnisse der Syphilisforschung. Dermat. Woch. 1925; Zum Chemismus der

---

1) D. Centralbl. Ref. Bd. 73. S. 531 ff.


a
b
c
d
Abb 1
a
b
c
Abb 2



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Salvarsanwirkung in vitro und vivo. Biochem. Ztschr. Bd. 157. S. 438, und Zur Wirkungsweise der III- u. V-wertigen As-Präparate; ferner Worauf beruht die spezifisch spirillozide Wirkung des Salvarsans? Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 149. — 14) Hailer, Die Desinfektion. Weyls Handb. d. Hyg. Leipzig (J. A. Barth) 1922. S. 115.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

Abb. a. Lebende Hefe. Halbschematisch. Starke Vergrößerung von Abb. 1 d. Taf. II.

Abb. b—d. Sporenhaltige Hefe. Halbschematisch. Starke Vergrößerung der Sporen aus Abb. 2c d. Taf. II.

Abb. 1. 1proz. wässerige Silbernitratlösung wurde mit $^1/_2$proz. Lezithinätherlösung geschüttelt, mit H_2S-Wasser versetzt und zentrifugiert. Das ganze Ag befindet sich im Lezithinäther.

Abb. 2. Wie bei Abb. 1 erläutert, nur wurde Silbernitratlösung verwendet, der einige Tropfen NH_3 zugesetzt worden waren. (Ein Teil des Silbers bleibt hier bereits in der wässerigen Phase zurück, was man an deren schwacher Bräunung erkennt.

Abb. 3 u. 4. Hier wurde dem Silbernitrat noch mehr NH_3 zugesetzt. Mit steigendem NH_3-Gehalt bleibt mehr Silber der Einwirkung mit dem Lezithin entzogen. Es haben sich hier auch Bodensätze von AgS gebildet.

Abb. 5. Wie bei Abb. 1 erläutert, nur wurde hier 1proz. $CuSO_4$ verwendet, in Abb. 6 1proz. Osmium- und in Abb. 7 1proz. Rutheniumchlorid (ohne H_2S).

Abb. 8. Wässerige Viktoriablaulösung.

Abb. 9. Dieselbe nach Zusatz von Na_2CO_3.

Abb. 10. Die ausgefallene Viktoriablaubase sitzt als braunrote Masse am Boden des Zentrifugenglases.

Abb. 11. Filtrat aus der Versuchsanordnung der Abb. 10.

Abb. 12. Das in Abb. 11 beschriebene Filtrat nach dem Versetzen mit Essigsäure.

Abb. 13. Filtrat erhalten durch Uebergießen der auf einem Filter sich befindenden roten Viktoriablaubase mit Essigsäure 1 : 100.

Abb. 14. Wie bei Abb. 13, nur unter Verwendung von Essigsäure 1 : 1000.

Abb. 15. Aetherische Lösung der Viktoriablaubase.

Tafel II.

Abb. 1a. Lebende Hefe wurde, in Wasser suspendiert, mit etwas frisch ausgefällter und mit dest. Wasser gewaschener Viktoriablaubase verrieben. Hängender Tropfen. Sofortige Untersuchung.

Abb. 1b. Derselbe nach 10 Min.

Abb. 1c. Derselbe nach $^1/_2$ Std.

Abb. 1d. Derselbe nach 24 Std.

Abb. 2a. Versuchsanordnung wie bei Abb. 1a erläutert, nur unter Verwendung von Milzbrandbazillen; bei 2b unter Verwendung von Gonokokken; bei 2c unter Verwendung von sporenhaltiger Hefe. Ueberall hängender Tropfen. Betrachtung nach vielen Stunden. (Bei der Zeichnung wurde jedesmal scharf eingestellt, weshalb die sonst vorhandenen unscharfen Stellen des hängenden Tropfens fehlen.)

Die Vererbung der erworbenen Immunität.

[Aus dem Swerdlowsker Bakteriologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. J. J. Stepanow-Grigorjew).]

Von Dr. **Otto Herrmann,**

Leiter der Pasteur- und Malariaabteilungen im Swerdlowsker Bakteriol. Institut.

Die vererbte Immunität, welche großen Einfluß auf den Gang von Seuchen ausübt, bezieht sich nach Neufeld nicht auf eine Vererbung im engeren Sinne, d. h. eine solche durch das Keimplasma, sondern auf Erscheinungen der Selektion und somit auf eine unspezifische Steigerung der Resistenz. Diese relative Immunität

wird als Wirkung einer allmählichen, durch Jahrhunderte fortgesetzten Auslese aufgefaßt, indem diejenigen Individuen, die widerstandsfähiger gegen diese Seuchen waren, durchschnittlich größere Möglichkeit hatten, sich fortzupflanzen.

Die Versuche Websters betreffs der vererbten Resistenz der Mäuse gegen Mäusetyphus, während welcher er Mäuse mit Mäusetyphus infizierte, die nicht erkrankten, miteinander paarte, die Nachkommenschaft derselben wiederum in derselben Weise infizierte, wonach die nicht erkrankten wieder gepaart wurden, zeigten, daß unter den zuerst für die Versuche benutzten Mäusen eine Mortalität von 70 Proz. zu verzeichnen war, wogegen bei der 2. Generation 42 Proz., der 3. nur eine Sterblichkeit von 15 Proz. sich ergab.

Diese Versuche beweisen zwar nicht, daß die vererbte Immunität durch das Keimplasma übertragen werden kann, zeigen aber, daß dazu unter Umständen nicht immer eine allmähliche Selektion im Laufe von vielen Jahrhunderten erforderlich ist.

Bedeutend genauer wird diese Frage durch die Versuche Metallnikovs erläutert. Er immunisierte Raupen „Galleria mellonella" gegen Choleravibrionen. Die ersten 2 Generationen waren danach noch nicht, von der 4. Generation aber waren 16 Proz., von der 9. schon 75 Proz. immun.

Wenn man Tiere gegen irgendwelche Infektion immunisiert und danach die Nachkommen derselben entsprechend infiziert, so kann man Aufklärung erhalten, ob die erworbene Immunität nicht durch das Keimplasma übertragen werden kann.

Versuche zur Aufklärung der Frage betreffs Vererbung der Immunität gegen Tollwut sind schon längst gemacht worden.

Nach Remlinger wird die Lyssaimmunität nur dann vererbt, wenn das Muttertier energisch während der Schwangerschaft immunisiert wird; aber auch dann soll die Immunität bei den Jungen nicht stabil sein, da dieselben die subdurale Infektion überhaupt nicht und nur selten die intraokuläre Infektion überstehen sollen.

Babes behauptet, daß der Vater bei der Vererbung der Immunität gar keine Rolle spielt. Außerdem erhielt er überhaupt ein negatives Resultat, als er mit Talasescu 3 Hündchen von beiden immunen Eltern infizierte. Konradi dagegen erhielt bei Kaninchen ein positives Resultat.

Die unten angegebenen Experimente habe ich anfangs Februar 1923 eingeleitet. Sie beweisen meines Erachtens ganz deutlich die Möglichkeit der Vererbung der erworbenen Immunität durch das Keimplasma, und

Tabelle.

Nr. der Serie	Muttertier: Nr., Haarfarbe, wann immunisiert	Männchen: Nr., Haarfarbe, wann immunisiert	Wurf			Gestorben vor der Immunisation	Infizierte Junge				Tod an Lyssa			Immune Junge	
			wieviel Junge	wann	nach Beendigung der Immunisation		wieviel	wann	wie	womit	wieviel	Haarfarbe	nach wieviel Tagen	wieviel	Haarfarbe
I	Nr. 15, bläulich	?	4	23. 5. 23	$2^1/_2$ Mon.	2	2	30. 7. 23	s. dur.	V. f.	1	grau	6	1	schwarz
II	Nr. 169, grau, vom 20. 8. 24 bis 6. 9. 24	schwarz	7	22. 1. 25	$4^1/_2$ Mon.	—	7	27. 2. 25	i. cer.	Str.-V.	2 2 1 1	grau schwarz bläulich dunk.-grau	14, 15 14, 18 15 20	1	grau
III	Nr. 182, hellgrau, vom 20. 8. 24 bis 17. 9. 24 mit 4täg. Interv.	weiß mit schwarzen Flecken	7	24. 1. 25	4 Mon. 1 Woche	—	7	28. 2. 25	i. cer.	Str.-V.	4 1	weiß mit schw. Flecken grau	12, 14, 15, 15 13	1 1	schwarz grau
IV	Nr. 319, weiß, vom 25. 5. 25 bis 17. 6. 25	Nr. 318, hellblau, vom 25. 5. 25 bis 17. 6. 25	8	25. 6. 25	8 Tage	1	7	31. 8. 25	s. dur.	Str. v.	1	schwarz	30	2 1 3	weiß schwarz grau

zwar auch dann, wenn die Schwangerschaft erst nach ziemlich geraumer Zeit eintritt (s. Tab. S. 83).

Serie I. Kan. 15 (bläulich) wurde 25 Tage mit einer 10proz. Vakzine — $^1/_2$ Proz. Phenol zu je 2 ccm subkutan immunisiert. Im ganzen wurden 5 g der Gehirnsubstanz einverleibt.

1 Tag nach Beendigung der Immunisation, am 10. 3. 23, wurde es s. d. mit Virus fixe infiziert, blieb aber gesund.

Am 23. 5. 23, somit also $2^1/_2$ Mon. nach Beendigung der Immunisation, warf das Muttertier Nr. 15 vom nicht immunisierten Männchen 4 Junge. 2 davon starben bald nach der Geburt, die anderen 2 wurden nach 68 Tagen (30. 7. 23) s. d. mit fixem Virus infiziert. 1 davon (grau, Nr. 34) ging am 5. 8. 23, also nach 6 Tagen zugrunde (dieser Termin ist üblich für kleine Kaninchen, welche mit dem Odessaer fixen Virus trepaniert werden). Das 2. Junge (schwarz, No. 35) blieb danach noch 68 Tage gesund. Es wurde dann zum 2. Mal s. d. mit V. f. infiziert (am 27. 9. 23) und starb 7 Tage danach (nach einer geringen Verzögerung für kleine Kaninchen). Das Junge Nr. 35, welches die Immunität ererbte, war von einer anderen Farbe als das Muttertier (Nr. 35 schwarz. Nr. 15 bläulich).

Serie II. Kan. 169 (Weibchen, grau) wurde 18 Tage zu je 2 ccm mit einer 69—86tägigen 1proz. Vakzine immunisiert, welche $^1/_2$ Std. bis 58—60° erwärmt und zu welcher $^1/_2$ Proz. Phenol hinzugefügt wurde (im ganzen 0,36 g Gehirnsubstanz injiziert). Nach 27 Tagen (2. 10. 24) wurde es subdural mit Straßenvirus infiziert, blieb aber gesund (Kontrollkaninchen 183 und 184 gingen bei solcher Infektion nach 14 Tagen zugrunde).

Nach $4^1/_2$ Monaten (27. 2. 25) wurde es zum 2. Mal i. cer. mit Straßenvirus infiziert und blieb wiederum gesund. Einige Kontrolltiere 277, 278, 269, d. h. nicht immunisierte Kaninchen, welchen dieses Straßenvirus injiziert wurde, starben an Wut nach 16, 18, 22 Tagen.

Am 8. 4. 25 wurde Kan. 169 zum 3. Mal, aber schon mit fixem Virus, i. cer. infiziert. Es erkrankte nach 9 Tagen (17. 4. 25) und erlag der Wut nach 13 Tagen, obwohl erwachsene Passagekaninchen durch dieses Virus regelmäßig nach 7—8 Tagen getötet wurden.

Am 2. 1. 25, also $4^1/_2$ Monate nach Beendigung der Immunisation, als Kan. 169 völlig immun war, warf es vom nicht immunen Männchen (schwarz) 7 Junge (261—267), welche zugleich mit der Mutter am 27. 2. 25 i. cer. mit Straßenvirus infiziert wurden. Davon erlagen der Wut 6 Junge (2 graue nach 14—15, 1 bläuliches nach 15, 2 schwarze nach 14—18 und 1 dunkelgraues nach 20 Tagen). 1 graues (Kan. 261) blieb am Leben. Am 29. 3. 25, also nach 31 Tagen, wurde es zum 2. Mal i. cer. mit virulentem Straßenvirus infiziert und erlag der Wut nach 68 Tagen, obwohl Kontrollkan. 268, welches dann s. d. mit demselben Virus infiziert wurde, nach 15 Tagen und Kontrollmeerschweinchen 163 nach 14 Tagen erlagen.

Kan. 261, welches eine relative Immunität von mütterlicher Seite ererbt hatte, war von derselben Farbe wie die Mutter, obwohl 2 andere, ebenfalls graue, wie oben erwähnt, keine Immunität ererbten.

Serie III. Kan. 182 (Weibchen, hellgrau) wurde mit 1proz. bei 58—60° inaktivierter Vakzine 8mal mit 4tägigen Intervallen immunisiert (es wurde zu je 2 ccm s. kut., im ganzen 0,16 g Gehirnsubstanz, einverleibt). Nach 16 Tagen, also am 2. 10. 24, wurde es i. cer. mit demselben Straßenvirus infiziert, wie Kan. 169 (s. 2. Serie). Es blieb am Leben, obwohl Kontrollkan. 277, 278 und 269 der Wut nach 16, 18 und 22 Tagen erlagen.

Am 24. 1. 25, d. h. nach 4 Monaten und 1 Woche nach Beendigung der Immunisation, warf Kan. 182, welches vom nicht immunisierten Männchen (weiß mit schwarzen Flecken) befruchtet wurde, 7 Junge (270—276), welche zugleich mit der Mutter am 28. 2. 25 i. cer. mit Straßenvirus infiziert wurden, welches am 27. 2. 25 zur Infektion des Kan. 169 und dessen Jungen verwendet wurde.

Das Muttertier 182 erkrankte am 14. 3. 25 und erlag der Wut am 19. 3. 25 (19 Tage nach der Infektion). Von den Jungen starben an Wut 5 (4 weiße mit schwarzen Flecken nach 12, 14, 15 und 15 Tagen und 1 graues nach 13 Tagen). Die anderen 2 (schwarz und grau) blieben am Leben und wurden zum 2. Mal i. cer. am 30. 3. 25, also 30 Tage nach der 1. Inokulation, infiziert. Das graue erlag der Operation am folgenden Tage, das schwarze (274) dagegen blieb wiederum gesund (wurde 3 Monate beobachtet). Kontrollkan. 268 erlag nach 15, Kontrollmeerschw. 163 nach 14 Tagen. In diesem Falle erwiesen sich 2 als immun (ein graues, wie die Mutter, und ein schwarzes).

Kan. 15 wurde schon im Centralbl. f. Bakt., Abt. I. Orig. Bd. 94. und im Journ. f. Mikrobiologie, Pathol. u. Inf. Vol. 1. H. 3/4, 1924 (Moskau, russisch) erwähnt, Kan. 169, 182, 183 und 184 sind im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96 beschrieben worden.

Serie IV. Kaninchenweibchen 319 wurde vom 25. 5. bis 17. 6. 25, also 24 Tage, mit ebensolcher Vakzine, wie in Serien II und III immunisiert, nur war dieselbe 2 Proz. 8 Tage nach Beendigung der Immunisation (25. 6. 25) warf es vom Männchen 318 (bläulich), welches unter gleichen Bedingungen immunisiert wurde, 8 Junge, von denen 1 bald nach der Geburt zugrunde ging. Am 24. 7. 25 erkrankte das Muttertier, sei es infolge mangelhafter Kost, da längere Zeit kein Gemüse zu erhalten war, oder infolge der Impfungen. Die Augen eiterten. Vom 27. 7. wurde Parese der Hinterbeine beobachtet. Am 30. 7. waren die Hinterbeine ganz paralysiert, so daß bei der Bewegung dieselben nachgeschleift wurden. Es wurde bald Besserung, bald wieder Verschlechterung bemerkt. So waren am 8. 8. die Augen wiederum ganz gesund, und konnte es beim Wechseln des Platzes, zwar mit Mühe, schon die hinteren Beine schrittweise verschieben. Am 24. 8. konnte es schon Sprünge machen, dagegen wurden die hinteren Beine im Oktober wieder nur schrittweise bewegt. Das Gewicht fiel zuerst, später aber wurde es wieder höher. So wog das Kaninchen am 30. 6. 2145 g, 27. 7. 1865 g, 3. 8. 1850 g, 24. 8. 2250 g, 28. 9. 2810 g.

Das Männchen (318) wurde am 31. 8. s.d. mit sehr virulentem Straßenvirus infiziert, welches ein Kontrollmeerschw. nach 9, ein erwachsenes Kontrollkan. nach 19 Tagen tötete. Kan. 318 erkrankte am 19. 9. und erlag der Wut am 22. 9. 25, somit erwies es sich nicht genügend immun, um einer subduralen Infektion zu widerstehen.

Die Jungen dieser 2 Kaninchen (2 weiße gleich der Mutter, 2 schwarze und 3 graue) wurden am 31. 8. 25 s. d. mit Straßenvirus infiziert. Ein schwarzes erkrankte am 27. 9. 25 und ging an Wut am 30. 9., also 30 Tage nach der Infektion, zugrunde, alle anderen dagegen blieben am Leben.

Irgendein Zusammenhang der Haarfarbe der Eltern und der Jungen mit der Vererbung der Immunität konnte auch aus dieser Serie nicht wahrgenommen werden.

Die Versuche betreffs der Rolle des Vaters bei der Vererbung der Immunität und wie die folgenden Generationen dabei reagieren, werden noch weiter verfolgt. Es wäre auch interessant, zu bestimmen, ob diese Immunität nicht im Zusammenhang mit den spezifischen isohämagglutinabeln Substanzen vererbt wird, wie Hirszfeld für Diphtherie, Barker für verschiedene Nervenkrankheiten beschrieben haben. Jedoch können schon aus dem, was oben beschrieben ist, irgendwelche Schlüsse gezogen werden.

In der 1. Serie erwies sich von 2 Jungen des immunisierten Muttertieres 1 als immun (Weibchen bläulich, Junge schwarz).

In der 2. Serie war von 7 Jungen des immunisierten Muttertieres 1 immun (Männchen schwarz, Weibchen und ein Junges grau, obwohl 2 andere graue keine Immunität ererbten).

In der 3. Serie erwiesen sich von 7 Jungen des immunisierten Muttertieres 2 als immun (Männchen weiß, schwarz gefleckt, Weibchen grau, ein immunes Junges grau, das andere schwarz, obwohl ein zweites graues nicht immun war).

In der 4. Serie erlag von 7 Jungen beider immunisierten Eltern nur 1, 6 dagegen erwiesen sich als immun (Männchen hellgrau, Weibchen weiß, immune Junge teils weiß, teils schwarz, teils grau).

Der Umstand, daß, wenn nur die Mutter immunisiert wurde, ein geringer Teil der Jungen sich als immun erwies (Ser. 1—3), bei beiden immunisierten Eltern dagegen der größte Teil die subdurale Impfung mit Straßenvirus überstand (Ser. 4), bringt mich auf den Gedanken, obwohl vorläufig noch Resultate betreffs der folgenden Generationen fehlen, daß die Vererbung der erworbenen Immunität gegen Lyssa, im Gegensatz zu der üblichen Ansicht bezüglich der Vererbung der erworbenen Eigenschaften, sich anscheinend doch den Mendelschen Gesetzen unterordnet.

Wenn man die nicht immunen Kaninchen als Ausgangsform, somit als homozygote gegenüber der Immunität annimmt, die immunisierten dagegen mit den heterozygoten vergleicht, da sie nichtimmune Vorfahren hatten, so muß, falls nur die Mutter oder der Vater immun ist, eine Hälfte der Jungen nicht immun (homozygot) sein, die andere dagegen immun, aber mit der Potenz teilweise nicht immune Nachkommen zu haben (heterozygot) nach der Formel: $RR \times DR = RR + DR$.

Bei beiden immunisierten Eltern, wenn beide Faktoren somit heterozygot sind, muß nach der Formel $DR \times DR = DD + 2\ DR + RR$ ein Viertel der Jungen homozygot-immun sein, ein Viertel homozygot-nicht-immun, die übrige Hälfte heterozygot-immun, aber mit der Potenz teilweise nicht immune Nachkommenschaft zu geben.

Um genau oben angeführtes Verhältnis zu erhalten, müßte man ein großes Zahlenmaterial haben, ich dagegen kann selbstverständlich nur über ziemlich geringe Zahlen verfügen, so daß es klar ist, daß ich betreffs Unterordnung der vererbten Immunität den Mendelschen Gesetzen vorläufig nur eine Vermutung aussprechen kann.

Schlußfolgerungen.

1) Lyssaimmunität kann bei immunisierten Kaninchen durch das Keimplasma vererbt werden, und zwar auch dann, wenn die Schwangerschaft des Muttertieres $1^1/_2$—$3^1/_2$ Monate nach Beendigung der Immunisation eintritt. — 2) Die durch Vererbung immunen Kaninchen können eine subdurale Infektion mit Straßenvirus überstehen. — 3) Von vielen Jungen der immunisierten Muttertiere (bei denen die Schwangerschaft $1^1/_2$—$3^1/_2$ Monate nach Beendigung der Immunisation eintrat) und nicht immuner Väter erwiesen sich nur wenige als immun gegen eine subdurale Impfung mit Straßenvirus. — 4) Bei beiden immunisierten Eltern, als die Schwangerschaft während der Immunisation eintrat, erwiesen sich von 7 Jungen 6 als immun gegen subdurale Infektion mit Straßenvirus. — 5) Die Vererbung der erworbenen Immunität scheint keinen Zusammenhang zu haben mit der Vererbung der Haarfarbe der Tiere. — 6) Ob die vererbte Immunität sich den Mendelschen Gesetzen unterordnet, kann ich vorläufig nicht behaupten, jedoch scheinen die erhaltenen Resultate dafür zu sprechen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinen Dank auszusprechen dem Herrn Prof. J. J. Stepanow-Grigorjew für die liebenswürdige Ermöglichung, diese Arbeit weiter zu führen, und Frl. O. P. Sotina, Laborantin an der Pasteurabteilung des Instituts, für ihre eifrige Unterstützung.

Literatur.

Babes-Talasescu, Ann. de l'Inst. Past. 1894. — Babes, V., Traité de la rage. 1912. p. 443. — Herrmann, O., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94 u. Bd. 96. — Ders., Journ. f. Mikrobiol., Pathol. u. Inf. Bd. 1. H. 3/4 (Moskau, russisch). — Konradi, D., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. — Metallnikov, S., ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 79. H. 15/16. — Neufeld, F., Deutsche med. Woch. 1925. Nr. 9. S. 341. — Webster, Journ. Exper. Med. Vol. 39. p. 129.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über den Mechanismus der natürlichen Immunität.

III. Mitteilung.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Odessaer Medizinischen Instituts.]

Von Prof. **W. Jelin**, Odessa.

Auf Grund von uns ausgeführter Untersuchungen[1]) sind wir zu dem Schlusse gekommen, daß als Hauptfaktor des Zugrundegehens der Saprophyten in der Bauchhöhle das Bauchfellendothel anzusehen ist, dessen phagozytäre Tätigkeit sich gegenüber allen Saprophyten entfaltet, unabhängig davon, ob die Körperflüssigkeiten für diese Mikroorganismen bakterizid sind oder nicht. Wir haben festgestellt, daß das Bauchfellendothel sowohl den Bac. mycoid. roseus und den Staphylococcus albus, auf welche die Körperflüssigkeiten eines Kaninchens nicht bakterizid wirken, als auch die Sarcina flava und den Bac. anthracoides, für die diese Flüssigkeiten in natürlichem Zustande mehr oder weniger bakterizid sind, in gleichem Maße aufnimmt und verdaut. Somit spielen die beiden anderen Faktoren, d. h. die Bakterizidie der Körperflüssigkeiten und die phagozytäre Tätigkeit der Leukozyten eine sekundäre Rolle, die in einer Verkürzung der für den Organismus zum Bekämpfen intraperitoneal eingeführter Mikroben nötigen Zeit zum Ausdruck kommt. Und wir sehen in der Tat, daß ein Kaninchenorganismus mit einer gewissen Menge Bac. anthracoides und Sarcina flava schneller fertig wird als mit einer gleichen Menge Bac. mycoides roseus und weißem Staphylokokkus. Zuweilen ist die Bakterizidie der Körperflüssigkeiten sehr scharf ausgesprochen, wie das bei Bac. anthracoides der Fall ist, und ihre Rolle kann eine sehr wesentliche sein.

Daß Zellen, Abkömmlinge des Mesenchyms[2]) imstande sind, Keime energisch aufzunehmen und zu verdauen, war längst bekannt. Schon Wyssokowitsch[3]) hat gezeigt, daß ins Blut eingespritzte Saprophyten durch das Endothel der Milz, der Leber und der übrigen parenchymatösen Organe festgehalten werden; diese Angaben wurden jedoch wenig beachtet.

Das Interesse für das Retikulo-Endothel wurde durch die Arbeiten Aschoffs und seiner Schüler geweckt. In diesen Arbeiten ist festgestellt, daß das R.-E. der Hauptfaktor der Abwehr des Organismus gegen eingedrungene Fremdkörper ist; Kiyono[4]) hat bewiesen, daß ins Blut eingespritzte Tusche und Karmin sich in dem retikulo-endothelialen Apparate lagern[5]). Außerdem ist von Pfeiffer und Marx[6]), Bie-

1) W. Jelin, Diese Ztschr.
2) Das Bauchfellendothel ist als Abkömmling des Mesoderms anzusehen.
3) Wyssokowitsch, Ztschr. f. Hyg. Bd. 1. S. 1.
4) Kiyono, Die vitale Karminspeicherung. 1914.
5) Unter dem allgemeinen Namen „retikulo-endothelialer Apparat“ werden nicht allein die retikulären Zellen des lymphoiden Gewebes, die Kupfferschen Zellen der Leber und das Kapillarendothel, das die serösen Höhlen bekleidende Endothel zusammengefaßt, sondern auch der Komplex verschiedener wandernder Formen, die im Bindegewebe als Polyblaste, Histiozyten, Plasmozyten usw. bekannt sind und wie Maximow bewiesen hat, verschiedene Stadien von progressiven Aenderungen gewöhnlicher Lymphozyten darstellen.
6) Pfeiffer u. Marx, Ztschr. f. Hyg. Bd. 27. S. 272.

ling und Isaac[1]), Neufeld und Meyer[2]) die Tatsache konstatiert worden, daß Antikörper vom retikulo-endothelialen Gewebe produziert werden. Endlich wurde von Singer und Adler[3]) dargetan, daß bei gegen Pneumokokkus III, II, I aktiv immunisierten Kaninchen als Ursache ihrer Unempfänglichkeit nicht die Antikörper und Leukozyten, sondern die phagozytäre Tätigkeit des R.-E. anzusehen ist: bekanntlich enthält das Serum eines mit Pneumokokkus III immunisierten Kaninchens gar keine Immunkörper, dagegen enthält das Serum von Kaninchen, die mit Pneumokokkus II und I immunisiert sind, mehr oder weniger Immunkörper, wobei die Immunität sowohl im ersten als auch im zweiten Falle sehr hoch ist.

Indem die Autoren das Blockierungsverfahren des retikulo-endothelialen Gewebes durch Tusche mit gleichzeitiger Einverleibung von Infektionskeimen in das Knochenmark anwandten, gelangten sie zu der Ansicht, daß sowohl im ersten als auch im zweiten Fall das die Pneumokokken aus dem Blute aufnehmende und sie verdauende R.-E. als Immunitätsträger auftritt; was aber die gewöhnlichen Immunkörper des Serums anbetrifft, so spielen diese im Mechanismus der künstlichen Immunität offenbar keine Rolle, da sie bei beschädigtem R.-E. gar keinen Nutzen bringen; nur bei Typus I und II, nicht aber bei Typus III bereiten vielleicht die bakteriotropen Körper diese Pneumokokken zu deren bevorstehenden Abtötung in den Histiozyten vor; die phagozytäre Tätigkeit der Leukozyten spielt ebenfalls gar keine Rolle in den Erscheinungen der spezifischen Immunität. Folglich erleiden die Zellen des retikulo-endothelialen Gewebes durch Immunisierung eine derartige Umstimmung, daß sie besser imstande sind, die Pneumokokken aufzunehmen und zu verdauen.

Wie wir gesehen haben, führen die von uns erhaltenen Versuchsergebnisse zu der Ansicht, daß in den Erscheinungen der natürlichen Immunität das R.-E. die Hauptrolle spielt. Zugleich ist aber auch die natürliche Bakterizidie von großer Bedeutung[4]).

In vorliegender Arbeit hatten wir uns zur Aufgabe gemacht, die Rolle eines jeden der drei mutmaßlichen Immunitätsfaktoren — des R.-E., der Leukozyten und der Immunkörper — aufzuklären, indem wir sie, einen jeden einzeln, unter Ausschaltung der zwei anderen, unseren Saprophyten gegenüberstellten.

Zur Vermeidung der Phagozytosetätigkeit auf die intraperitoneal

---

1) Bieling, Ztschr. f. Immunitätsforsch. 1922. S. 143.

2) Neufeld u. Meyer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 103. S. 595.

3) Singer u. Adler, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 41. S. 68 u. 171.

4) Als diese Mitteilung schon niedergeschrieben war, erschienen einschlägige Arbeiten von Bass und Singer (Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 43. S. 269 u. 285). Bass, der den Immunitätsmechanismus gegen Streptokokken beim Kaninchen studierte, gelangte zu dem Schlusse, daß diese Immunität auf der Aufnahme und Vernichtung der Streptokokken durch das retikulo-endotheliale Gewebe beruhe; was die Leukozyten anbetrifft, „so kommt ihnen die lokale keimvernichtende Wirkung zu; das Immunserum mit seinen Bakteriotropinen ist als Vermittler zwischen Kokken und R.-E. anzusehen". Von Singer, der den Mechanismus der Milzbrandinfektion und -immunität untersuchte, ist festgestellt, daß die Milzbrandkeime durch die R.-E.-Zellen aufgenommen werden. Beim Normaltier vermehren sich die Keime in den Zellen des R.-E. und treten dann sekundär ins Blut; beim Immuntiere kommen sie in den R.-E.-Zellen um. Die bakteriziden Eigenschaften des Blutes spielen gar keine Rolle bei der Abwehr des Organismus gegen die Infektion. Beim Huhn, das relativ immun gegen Milzbrand ist, sind die Verhältnisse denen beim immunen Kaninchen ähnlich.

eingeführten Keime (zwecks Erforschung der Wirkung von Körperflüssigkeiten auf dieselben) verwendet man seit Nocard und Roux Kollodiumsäckchen, die mit Versuchskeimen in die Bauchhöhle eingenäht werden. Diese Methode ist aber unseres Erachtens nicht einwandfrei. Die Kollodiumsäckchen sind Ultrafilter und lassen nur Salze, Zucker usw., d. h. nur Kristalloide durch, indes die Kolloide an der Oberfläche zurückgehalten werden. Daher wäre der Einwand angebracht, daß wir die Keime in ein in die Bauchhöhle einzunähendes Säckchen bringend, dadurch nicht nur diese gegen die Phagozytose sichern, sondern auch die Wirkung der Schutzkörper hemmen, die höchstwahrscheinlich zu den Kolloiden gehören oder mit diesen verbunden sind. Um diesen Versuch zuverlässig zu gestalten, beschlossen wir, ihn folgendermaßen zu verändern: Das Säckchen wird nicht aus Kollodium, sondern aus Filtrierpapier doppelwandig flach angefertigt. Indem wir Suspensionen unserer Mikroben durch solche doppelwandige Säckchen filtrierten, vergewisserten wir uns davon, daß die Säckchen diese nicht durchlassen, dabei aber für Kolloide durchlässig sind und die Bauchhöhlenflüssigkeiten, in toto die Wände der Säckchen durchtränkend, in deren Inneres gelangen und mit den darin befindlichen Keimen in Berührung kommen. Das Säckchen muß ein blindes Ende haben, da andernfalls Phagozyten eindringen können. Der Versuch wurde folgendermaßen angeordnet: Flache, doppelwandige Säckchen von Filtrierpapier wurden in einem kleinen Glas, oder in einem mit Watte verstopften Reagenzgläschen sterilisiert; durch ein solches Säckchen ließ man eine bestimmte Menge Mikrobensuspension durch oder man brachte einfach auf die innere Wand des Säckchens eine oder mehrere Oesen Versuchsmikroben; das Ende des Säckchens wurde mehrfach nach innen umgebogen und mit einem Seidenfaden zugebunden; alles wurde natürlich unter aseptischen Bedingungen ausgeführt. Danach wurde das Säckchen in die Bauchhöhle eines Kaninchens eingenäht. Nach einer bestimmten Zeit öffnete man die Bauchhöhle und nahm das gewöhnlich mit den Därmen ein wenig verklebte Säckchen heraus, brachte es auf eine sterile Petri-Schale, schnitt es mit einer sterilen Schere auf und schwemmte den Inhalt mit 10 ccm physiol. Lösung sorgfältig auf. Eine Oese dieser Flüssigkeit wurde auf flachen Agar gesät und für einige Zeit im Brutschrank stehen gelassen; dann sah man nach, ob und wieviel Kolonien sich entwickelt hatten, um festzustellen, ob die Mikroben sich vermehrt hatten oder nicht. Wir bringen hier die Daten einiger Protokolle.

Versuch I.

2 chloroformierten Kaninchen wird in die Bauchhöhle je ein doppelwandiges Säckchen aus Filtrierpapier, auf dessen innerer Wand eine Oese Bac. mycoid. roseus aufgetragen ist, eingenäht. Nach 18 Std. wird bei einem Kaninchen die Bauchhöhle geöffnet, das Säckchen herausgenommen, aufgeschnitten, seine innere rosarot gefärbte Oberfläche mit 10 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und eine Oese der erhaltenen Lösung auf Agarplatten ausgesät; nach 24 Stunden entwickelt sich eine ungeheure Menge Kolonien von Bac. myc. ros. Bei dem 2. Kaninchen wird die Bauchhöhle nach 42 Std. geöffnet, das Säckchen entnommen usw. Eine Platinöse der aufgeschwemmten Flüssigkeit wird auf Agarplatten gesät; nach 24 Std. ist die Schale ganz mit Bac. myc. ros.-Kolonien überwuchert.

Versuch II.

Einem Kaninchen wird in die Bauchhöhle ein doppelwandiges Säckchen aus Filtrierpapier eingenäht, auf dessen innerer Oberfläche eine Oese Staphyl. albus

aufgetragen ist. Nach 43 Std. wird die Bauchhöhle geöffnet, das Säckchen herausgezogen, mit einer sterilen Schere aufgeschnitten, die innere Oberfläche mit 10 ccm phys. Kochsalzlösung abgespült. Ein Tropfen wird auf flachen Agar ausgesät. Aufgegangen ist eine unzählbare Menge Kolonien von Staphylococcus albus.

Versuch III.

Zwei Kaninchen werden chloroformiert, jedem von ihnen wird ein Säckchen von Filtrierpapier, auf dessen innere Wand 4 Oesen Bac. anthracoides-Stämme aufgetragen sind, eingenäht. Nach 2 Std. wird bei einem Kaninchen die Bauchhöhle geöffnet, das Säckchen herausgenommen, aufgeschnitten, die innere Oberfläche mit 10 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, eine Oese Flüssigkeit wird auf eine Petri-Schale gegossen. Es entwickeln sich 3—10 Kolonien.

Bei dem anderen Kaninchen wurde die Bauchhöhle nach 19 Stunden geöffnet: das Säckchen wurde herausgezogen, aufgeschnitten, mit 10 ccm phys. Kochsalzlösung geschwemmt, eine Oese der Flüssigkeit auf eine Petri-Schale gesät. Die bei 37° gehaltene Schale bleibt steril.

Versuch IV.

Zwei Kaninchen werden chloroformiert und einem jeden von ihnen wird ein Säckchen aus Filtrierpapier eingenäht, auf dessen innerer Oberfläche 4 Oesen Sarcina flava aufgetragen sind. Nach 24 Std. wird die Bauchhöhle des einen Kaninchens geöffnet, das Säckchen aufgeschnitten und mit 10 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Auf Petri-Schalen wird je eine Oese Suspension gesät. Gewachsen sind: 8, 27, 2, 0 Kolonien. Nach 42 Std. öffnet man die Bauchhöhle bei dem anderen Kaninchen; das weitere Verfahren wie vorher; eine Oese auf flachem Agar gesäter Flüssigkeit erweist sich völlig steril.

Diese Versuche sprechen wiederum dafür, daß an der Vernichtung der Saprophyten bakterizide Stoffe durchaus teilnehmen: Die der Phagozytosewirkung entzogenen Bac. anthracoides und Sarcina flava gingen allein unter der Einwirkung der Körperflüssigkeiten zugrunde, d. h. unter dem Einflusse von bakteriziden Stoffen in diesen Flüssigkeiten, nur war dazu mehr Zeit erforderlich. Hingegen entwickelten sich der weiße Staphylokokkus und der Bac. mycoid. roseus üppig an der inneren Wand des Säckchens.

Wir machen hier auf die Ergebnisse des Versuches IV aufmerksam: sogar die verhältnismäßig schwache Bakterizidie der Kaninchenkörperflüssigkeit gegenüber Sarcina flava genügt schon dem Organismus, die Mikroben ohne Mitwirkung der Phagozyten zu überwinden.

Um die Rolle der eingewanderten Elemente in der Abtötung der intraperitoneal eingeführten Saprophyten zu kontrollieren, verfuhren wir folgendermaßen: Es wurden doppelwandige Filtrierpapiersäckchen in Gestalt von platten Röhrchen hergestellt. Die Enden der Säckchen waren nicht blind und wurden einfach mittels eines einigemal umwundenen Seidenfadens zugebunden. Trotzdem die Enden gut verbunden waren, gelangten doch Leukozyten in diese Röhrchen, nachdem diese in die Bauchhöhle eingenäht waren. Man trägt an die innere Wand eines solchen Säckchens eine Oese eines von unseren Saprophyten, dem gegenüber die Bauchhöhlenflüssigkeit nicht keimtötend ist, und näht das Säckchen in die Bauchhöhle eines Kaninchens. Wenn man die Bauchhöhle nach einigen Tagen wieder öffnet und das Säckchen herausnimmt, so findet man die innere Wand ganz mit einer schleimigen Masse bedeckt, die sich im Mikroskop fast nur aus Leukozyten, unter denen sehr wenig Makrophagen vorkommen, bestehend erweist. Bei dieser Versuchsanordnung diente die die Wände des Säckchens durchtränkende Bauchhöhlenflüssigkeit als Nährmedium den Mikroben, wobei diese von den Wänden des Säckchens nicht abgeschwemmt wurden, da die Bauchhöhle verhältnismäßig wenig Flüssigkeit enthält und diese nur in sehr geringer Menge in das Innere des Säckchens eindringen konnte. Zudem wurde die Flüssigkeit durch die in großer Anzahl in die Bauchhöhle zuströmenden Leukozyten dicht und schleimig.

Versuch V.

Einem Kaninchen wird in die Bauchhöhle ein Röhrchen aus Filtrierpapier eingenäht; an die innere Oberfläche des Röhrchens wird eine Oese Bac. mycoid. ros. aufgetragen; ein eben solches Röhrchen mit einer Oese Staphylokokken wird einem andern Kaninchen eingenäht; nach 72 Std. werden die Bauchhöhlen geöffnet, die Röhrchen herausgenommen und aufgeschnitten; der Inhalt besteht aus einer schlei-

migen Masse, die mikroskopisch sich aus Mikro- und sehr wenigen Makrophagen bestehend erweist; es wird eine beträchtliche Phagozytose der Staphylokokken und eine schwache der Bac. mycoid. ros. festgestellt; die letzteren lassen sich hauptsächlich in den Makrophagen finden. Die Wände der Säckchen werden mit 10 ccm phys. Kochsalzlösung abgeschwemmt; eine Oese der Flüssigkeit wird auf flachen Agar ausgesät. Die Schalen mit Bac. mycoid. roseus sind dicht überwuchert; die Kolonien zu zählen, ist unmöglich. Auf den Schalen mit Staph. albus sind 280, 900, 596 Kolonien zu sehen.

Dieser Versuch ergibt uns wiederum mit voller Evidenz die unbedeutende Rolle der Mikrophagen in dem Abwehrprozesse des Organismus gegen die eingedrungenen Saprophyten. Hier befanden sich die Mikroben sozusagen unter vier Augen mit den Leukozyten, da der Versuch mit Mikroorganismen angestellt war, auf die Körpersäfte des Kaninchens nicht keimtötend wirken; außerdem wurden die Mikroben von dem Bauchfellendothel isoliert; und letzten Endes erhielten wir nach 3 Tagen eine Mikrobenkultur an den Wänden des Säckchens, die bei dem weißen Staphylokokkus zwar nicht so ergiebig war wie bei Bac. mycoid. roseus. Es sei hier darauf hingewiesen, daß die Makrophagen in dieser Schleimmasse (in den Säckchen) in geringer Menge vorkommen, offenbar deshalb, weil sie weniger beweglich sind und ihre Anzahl im Exsudat der Bauchhöhle derjenigen der Mikrophagen überhaupt nachsteht. Diese Ergebnisse drängen außerdem den Gedanken auf, daß die Saprophyten durch die Leukozyten unter anderen Bedingungen aufgenommen werden als durch das Endothelialgewebe. Während das letztere alle unsere Saprophyten aufnimmt und verdaut, halten die Mikrophagen gegenüber den verschiedenen Saprophyten eine gewisse Auswahl ein: der Staphylokokkus wird von ihnen energisch aufgenommen, gegenüber unseren anderen Saprophyten kommt diese Fähigkeit jedoch verhälnismäßig schwach zum Ausdruck. Die eingebürgerte Ansicht, daß alle Saprophyten durch die Mikrophagen gleich gut aufgenommen und verdaut werden, trifft offenbar nicht zu. Vielleicht wird die Energie, mit der die Mikrophagen einen gegebenen Saprophyten aufnehmen, durch dessen Art bestimmt. Wie dem aber auch sei, für die Unempfänglichkeit hat dieser Umstand keine wesentliche Bedeutung.

Um die Rolle des Bauchfellendothels in der Keimvernichtung zu prüfen, bedienten wir uns der Ausschaltungsmethode dieses Endothels durch Blockierung mittels Tusche und gleichzeitiger Blockierung des gesamten retikulo-endothelialen Apparats, da ein Teil der Mikroben, wie wir feststellen konnten, die Endotheldecke des Bauchfells durchdringt.

Kaninchen erhielten an 3 Tagen 30 ccm 5proz. Tuschelösung in phys. Salzlösung — 2mal täglich zu 5 ccm. Am ersten Tage wurde den Kaninchen je 5 ccm in die Ohrvene injiziert; am zweiten je 5 ccm in die Ohrvene und 5 ccm intraperitoneal; am dritten Tage dieselbe Prozedur wie am zweiten.

24 Std. nach der letzten Injektion bekamen die in dieser Weise vorbehandelten Kaninchen und das Kontrolltier je 3 ccm Suspension eines unserer Saprophyten intraperitoneal. Darauf wurde die Zeit, in der unsere Saprophyten aus der Bauchhöhle des Versuchs- und des Kontrolltiers verschwanden, und die Veränderung der Zellelemente der Bauchhöhlenflüssigkeit beobachtet.

Versuch VI.

Einem mit Tuschelösung vorbehandelten Kaninchen wurde dem Obigen gemäß 3 ccm Suspension Bac. myc. ros. intraperitoneal einverleibt; das Kontrollkaninchen erhielt dasselbe Quantum dieser Suspension (die 24stünd. Kultur wurde mit bis an den oberen Agarrand gefüllter physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt).

Nach 15 Min. wurde Bauchhöhlenflüssigkeit entnommen. Ausstrich, Färbung nach Leishman. Versuchstier: im Gesichtsfeld Leukozyten, hauptsächlich Pseudoeosinophile, zugleich aber nicht wenig Makrophagen; zuweilen kommen Endothelialzellen vor; ein bedeutender Teil der letzteren ist mehr oder weniger mit Tusche imprägniert oder ganz zerstört; bei anderen — vakuolisiertes Protoplasma; im Innern der Phagozyten liegen keine, außerhalb aber viele Stäbchen. — Kontrolltier: im Gesichtsfeld sind viele Stäbchen zu sehen; einzelne Lymphozyten kommen vor.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen Bac. myc. ros.-Kolonien: beim Versuchstier: ∞, beim Kontrolltier: ∞.

4 Std. 20 Min. nach erfolgter Injektion: Versuchstier: die Zahl der Leukozyten ist stark gestiegen, besonders die der Pseudoeosinophilen; phagozytierte Stäbchen sind nicht wahrnehmbar. — Kontrolltier: Ungeheure Massen von Leukozyten, hauptsächlich Pseudoeosinophile; Makrophagen und Endothelzellen kommen sehr selten vor. Mikroben, phagozytiert und außerhalb der Zellen sind nicht wahrnehmbar.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind Kolonien gewachsen: beim Versuchstier: ∞ beim Kontrolltier: ∞.

8 Std. 30 Min. nach der Injektion. Versuchstier: dasselbe Bild wie oben, nur die Zahl der Makrophagen und darunter der Endothelzellen, deren bedeutender Teil mit Tuschekörnchen imprägniert ist, hat sich vergrößert. Weder außerhalb noch innerhalb der Zellen sind Mikroben wahrnehmbar. — Kontrolltier: Dasselbe Bild wie bei dem Kontrolltier oben. Stäbchen sind nicht zu sehen.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind Kolonien gewachsen: beim Versuchstier: ∞, beim Kontrolltier: 120.

26 Std. nach der Injektion. Versuchstier: Die Zahl der Makrophagen und Endothelzellen ist jäh gestiegen, sie beträgt 30—40 Proz.; das Protoplasma der Endothelzellen ist zumeist vakuolisiert oder mit Tusche imprägniert. Stäbchen sind weder inner- noch außerhalb der Zellen zu konstatieren. — Kontrolltier: Ueberwiegende Anzahl von Leukozyten, aber auch bedeutender Zuwachs von Makrophagen und Endothelzellen, deren Zahl 3—5 Proz. beträgt. Stäbchen sind nicht zu sehen.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind Kolonien gewachsen: beim Versuchstier: 1200, beim Kontrolltier: 0.

33 Std. nach erfolgter Injektion. Versuchstier: Die teils mit Tusche imprägnierten Makrophagen und Endothelzellen sind in überwiegender Zahl, das Mittel beträgt 60—70 Proz.; dabei hat die Menge der Endothelzellen ihrerseits verhältnismäßig zugenommen. Stäbchen lassen sich nicht finden. — Kontrolltier: Ueberwiegend sind die Leukozyten, aber die Zahl der Makrophagen und Endothelzellen beträgt bereits 8—10 Proz.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind Kolonien gewachsen: beim Versuchstier: 0, beim Kontrolltier: 0.

50 Std. nach der Injektion. Versuchstier: Entschiedenes Vorherrschen der Makrophagen und Endothelzellen, deren Anzahl 80—90 Proz. der Gesamtmasse beträgt, wobei die Endothelzellen sich jäh vermehrt haben. — Kontrolltier: Die Zahl der hauptsächlich aus Pseudoeosinophilen bestehenden Leukozyten ist überwiegend. Die Menge der Makrophagen und Endothelzellen beträgt 10—12 Proz.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind Kolonien gewachsen: beim Versuchstier: 0, beim Kontrolltier: 0.

Bei der Beurteilung unserer Versuchsergebnisse müssen wir zugeben, daß die Behandlung eines Kaninchens mittels Tusche zu einer zeitlichen Verlängerung führt: Bac. mycoid. ros. verschwindet langsamer als um das Zweifache aus der Bauchhöhle. Es unterliegt keinem Zweifel, daß unserem Saprophyten die Möglichkeit einer ungehinderten Vermehrung in dem Kaninchenkörper geboten wäre, wenn wir eine vollständige Ausschaltung des R.-E. im Organismus erzielen könnten. Leider gelingt weder eine lokale noch totale Ausschaltung des R.-E. Was die Zellen der Bauchhöhlenflüssigkeit anbetrifft, so muß man eine jähe Beschleunigung des Makrophagenzuströmens in die Bauchhöhle und deren Zunahme in der Bauchhöhlenflüssigkeit im Vergleich zur Kontrolle hervorheben. Verursacht wird das durch die Zunahme der Makrophagen im Blute nach der Blockade des Endothelgewebes mittels Tusche. Die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen im Blute eines der Tuscheblockade ausgesetzten Kaninchens schwankt nach unseren Beobachtungen zwischen 16000—20000 in 1 cmm, wobei die Zahl der Monozyten zwischen 2800—4000 liegt. Zugleich untersuchten wir den Zustand der bakteriziden Stoffe im Serum des blockierten Kaninchens gegenüber Bac. mycoid. ros., und dieser erwies sich unverändert, d. h. das Serum des blockierten Kaninchens erwarb keine bakteriziden Eigenschaften gegenüber unserer Mikrobenart.

In den nachstehenden Versuchen mit unseren anderen Mikroben verzichten wir auf eine Schilderung der Veränderungen, die in dem Zellinhalt der Bauchhöhlenflüssigkeit vor sich gehen, da diese im all-

gemeinen mit den oben angeführten übereinstimmen. Angegeben werden nur diese oder jene Abweichungen.

Versuch VII.

Einem mit Tusche vorbehandelten Kaninchen wurden 3 ccm Suspension von weißen Staphylokokken-Saprophyten injiziert, die gleiche Menge erhielt das Kontrolltier (die Suspension wurde wie vorher hergestellt). Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach 10 Min.	18 000 Kolonien	15 300 Kolonien
„ 4 Std. 50 Min.	∞ „	4 200 „
„ 9 „	∞ „	720 „
„ 25 „	∞ „	0 „
„ 36 „	200 „	0 „
„ 52 „	0 „	0 „

Hier sehen wir ebenfalls, daß der Organismus bei weitem mehr Zeit nötig hat, um die intraperitoneal einverleibten Staphylokokken zu vernichten. Zugleich konnten wir in Ausstrichen aus der Bauchhöhlenflüssigkeit uns davon überzeugen, daß die Mikrophagen, worauf schon früher hingewiesen war, gegenüber den weißen Staphylokokken eine scharfe phagozytäre Tätigkeit ausüben; dieser Umstand beeinflußt jedoch den Reaktionscharakter des mit Tusche behandelten Organismus fast nicht.

Versuch VIII.

Ein mit Tusche vorbehandeltes Kaninchen erhält gleichzeitig mit der Kontrolle 3 ccm Bac. anthracoides-Suspension intraperitoneal.

Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach 20 Min.	53 Kolonien	121 Kolonien
„ 35 „	0 „	64 „
„ 1 Std. 10 Min.	0 „	10 „
„ 1 „ 35 „	0 „	0 „

Die Ergebnisse dieses Versuches sind ganz anders ausgefallen: statt einer Verlängerung der Zeitdauer, in der Bac. anthracoides aus der Bauchhöhle des mit Tusche behandelten Kaninchens verschwindet, sehen wir das Gegenteil, die Zeit ist viel kürzer. Wie läßt sich dieses Phänomen erklären? Der Grund dieser Erscheinung ist augenscheinlich in den Eigenschaften des Serums zu suchen. Und in der Tat, wenn wir das Serum eines mit Tusche behandelten Kaninchens auf Bakterizidie gegen Bac. anthracoides prüfen, so überzeugen wir uns von der Steigerung der bakteriziden Eigenschaften dieses Serums, was aus Tab. I ersichtlich ist.

Tabelle I.

	Unverdünntes Serum	1:10	1:20	1:40	1:100	1:200	1:500	1:1000
Versuchstier	+++	+++	++	+	+	+	+	—
Kontrolle	+++	+++	+	—	—	—	—	—

Wenn nach Bieling, Neufeld und Meyer u. a. das R.-E. der einzige Ort ist, wo die Antikörper bei künstlicher Immunisierung erzeugt werden, so sprechen unsere Ergebnisse dafür, daß im R.-E. auch natürliche bakterizide Stoffe produziert werden. Die Vernichtung des retikulo-endothelialen Gewebes oder dessen Imprägnierung mit Tusche hat eine Ausscheidung dieser Stoffe ins Blut zur Folge.

Versuch IX.

Ein mit Tusche vorbehandeltes Kaninchen erhält gleichzeitig mit der Kontrolle 3 ccm Sarcina flava-Suspension intraperitoneal. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach 10 Min.	12 000 Kolonien	10 500 Kolonien
„ 1 Std. 5 Min.	8 000 „	5 600 „
„ 4 „ 15 „	531 „	335 „
„ 6 „ 30 „	355 „	40 „
„ 9 „	47 „	0 „
„ 12 „ 30 „	0 „	0 „

Aus Obigem geht hervor, daß ungeachtet der Bakterizidie des Kaninchenserums gegen Sarcina flava die zum Untergange dieser Mikroben in der Bauchhöhle erforderliche Zeit sich verlängert hat, jedoch nicht so auffällig wie bei den Versuchen mit Bac. mycoid. ros. und Staphylokokkus. Um diese auf den ersten Blick widersprechende Erscheinung richtig aufzufassen, haben wir den Bakterizidietiter des Kaninchenserums auf Sarcina flava vor und nach Tuschebehandlung festgestellt.

Tabelle II.

	Unverdünntes Serum	1:5	1:10	1:20
Versuchstier	++	+	—	—
Kontrolltier	+	—	—	—

Es läßt sich, wie die vorstehende Tabelle II zeigt, keine nennenswerte Bakterizidie des Kaninchenserums konstatieren. Die Tuschebehandlung steigert diese Bakterizidie nur in sehr beschränktem Maße, sie muß aber gleichzeitig eine Verlängerung der Zeitdauer hervorrufen, in der die Sarcina flava infolge der Ausschaltung des retikulo-endothelialen Apparats vernichtet wird. Der zweite von diesen entgegengesetzten Faktoren erwies sich mächtiger, und eine unbedeutende Bakterizidieerhöhung bewirkte nur eine Abschwächung des gegebenen Faktors, d. h. die Verlängerung erwies sich nicht so auffällig.

Schlußfolgerungen.

1) Die Ausschaltung der Leukozytentätigkeit durch Einbringen verschiedener Saprophyten in Filtrierpapiersäckchen, die in die Bauchhöhle des Kaninchens eingenäht werden, ruft an den Wänden dieser Säckchen ein üppiges Wachstum des Bac. mycoid. ros. und Staphyl. alb. hervor, denen gegenüber das Kaninchenserum keine Bakterizidie aufweist. Bac. anthracoides und Sarcina flava dagegen, auf die das Kaninchenserum bakterizid wirkt, gehen in einem mehr oder weniger kurzen Zeitraum zugrunde, ohne sich an den Wänden der Säckchen vermehrt zu haben.

2) In Röhrchen von Filtrierpapier, die mit Bac. mycoides roseus und Staph. alb. beimpft und alsdann in die Bauchhöhle eingenäht wurden, wuchsen die Bakterien üppig an den Wänden der Röhrchen, obwohl Leukozyten in ungeheurer Menge in die Röhrchen gelangt waren. Dieser Umstand beweist, daß die Leukozyten eine sehr unbedeutende Rolle bei der Abtötung der Mikroben spielen.

3) Eine gleichzeitige intraperitoneale und intravenöse Tuscheinjektion bewirkt Verlängerung der Zeitdauer, innerhalb der Bac. mycoid. ros. und Staphyloc. alb. aus der Bauchhöhle des Kaninchens verschwinden; bei Bac. anthrac. findet dagegen unter gleichen Bedingungen eine Beschleunigung des Zugrundegehens statt, wobei zugleich eine Steigerung der Serumbakterizidie des mit Tusche behandelten Kaninchens im Vergleich zu einem normalen sich feststellen läßt. Diese Beobachtung weist darauf hin, daß der retikulo-endotheliale Apparat der Erzeugungsort von normalen bakteriziden Stoffen ist. Gegenüber Sarcina flava erfährt das Serum eines mit Tusche vorbehandelten Kaninchens eine geringe Bakterizidiezunahme, infolgedessen ist in diesem Falle nur eine mäßige Verlängerung der Zeitdauer bis zur Vernichtung der Keime erkennbar.

Nachdruck verboten.

Ueber die Konstanz des Hämolysierungsvermögens bei Coli-Bazillen.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin (Direktor: Dr. Kurt Meyer).]

Von Dr. **Rudolf Klingenstein.**

Bei den von Kurt Meyer und W. Löwenberg (1) an Coli-Bazillen angestellten serologischen Untersuchungen ergab sich in Bestätigung früherer Untersuchungen von Dudgeon, Wordley und Bawtree (2) eine Sonderstellung der hämolytisch wachsenden Stämme insofern, als es gelang, alle diese Stämme mit einem oder mehreren von 4 mit solchen Stämmen hergestellten Immunseren zur Agglutination zu bringen. Auf Grund dieses Verhaltens konnte von einer serologischen Einheitlichkeit zunächst der hämolytischen Stämme gesprochen werden.

Im Gegensatz zu den hämolytischen Coli-Stämmen wurden die nicht hämolytischen, die ebenfalls aus Urininfektionen gezüchtet waren, meist nur von dem homologen Immunserum agglutiniert. Indirekt ergab sich aber die nahe Verwandtschaft und Rezeptorengemeinschaft mit den hämolytischen Stämmen daraus, daß die mit ihnen hergestellten Immunsera auch zahlreiche hämolytische Stämme agglutinierten. Da nun weiter hierbei vielfach ein Uebergreifen der Agglutinationswirkung der einzelnen Sera festzustellen war, so schlossen K. Meyer und Löwenberg, daß auch die nichthämolytischen Stämme gemeinsame Rezeptoren besitzen, und somit nicht, wie man bis dahin glaubte, ein zusammenhangloses Nebeneinander serologisch uncharakterisierbarer Stämme darstellen.

Auch Bitter und Gundel (3) nehmen in einer wenig später erschienenen Arbeit eine gewisse serologische Einheitlichkeit der Coli-

Bazillen an. Sie konnten sich aber von einem verschiedenen Verhalten der hämolytischen und nichthämolytischen Stämme nicht überzeugen. Demgegenüber sei gestattet, einzufügen, daß sich im hiesigen Laboratorium die Sonderstellung der hämolytischen Stämme bezüglich der Agglutinabilität auch in weiteren Untersuchungen bestätigen ließ.

Im klinischen Bilde konnte Löwenberg einen ausgesprochenen Unterschied zwischen den durch hämolytische und nichthämolytische Coli-Bazillen hervorgerufenen Infektionen nicht feststellen. Dagegen behaupteten Bitter und Gundel (4), daß die Infektionen durch hämolytische Coli-Bazillen einen ähnlichen stürmischen Charakter zeigen, während sich die nicht hämolytischen Bazillen bei chronischen Erkrankungen finden sollen. Auf Grund neuer Erfahrungen an einem sehr großen Material sieht sich aber Löwenberg (5) veranlaßt, an seiner früheren Ansicht festzuhalten.

Es ist klar, daß alle Aussagen über bestimmte Eigenschaften der hämolytischen Coli-Bazillen gegenstandslos würden, wenn das Hämolysierungsvermögen keine konstante, sondern nur eine von den jeweiligen Wachstumsbedingungen abhängige Eigenschaft wäre, die jeder beliebige Coli-Stamm zeitweise annehmen könnte.

Angesichts der überraschenden Ergebnisse, die die experimentelle Variabilitätsforschung in den letzten Jahren auch in der Bakteriologie gebracht hat, war mit dieser Möglichkeit durchaus zu rechnen, um so mehr, als einzelne Angaben in der älteren Literatur für eine gewisse Inkonstanz des Hämolysierungsvermögens zu sprechen schienen.

So fand Th. Schmidt (6), daß längere Zeit auf Gelatine fortgezüchtete Stämme bei der Rückimpfung auf die Blutplatte bisweilen nicht mehr hämolytisch wuchsen. Ferner sieht E. Rosenthal (7) in dem Hämolysierungsvermögen lediglich eine „Funktion der Ernährungstätigkeit“.

Im Gegensatz hierzu fanden Dudgeon, Wordley und Bawtree das Hämolysierungsvermögen bei Nachprüfung nach 3 Monaten bis 1 Jahr noch erhalten, und es gelang ihnen andererseits nicht, durch 10malige Passage über Blutplatten bei 2 nichthämolytischen Stämmen hämolytisches Wachstum hervorzurufen. Die gleichen Erfahrungen machte W. Löwenberg, und auch Tinozzi (8) konnte neuerdings keine Aenderung der hämolytischen Kraft bei längere Zeit fortgezüchteten Stämmen feststellen.

Immerhin erschien eine eigens darauf gerichtete Prüfung dieser Frage wünschenswert. Die Versuche sollten entscheiden, ob es gelingt, nichthämolytischen Coli-Bazillen experimentell ein Hämolysierungsvermögen anzuzüchten, sodann ob die Tätigkeit des hämolytischen Wachstums bei längerer Fortzüchtung auf blutfreien Nährböden verschwindet.

Zu diesem Zwecke wurden in der einen Versuchsreihe 10 hämolytisch wachsende Stämme täglich von Agarplatte zu Agarplatte überimpft. Am Schlusse jeder Woche wurde durch Ueberimpfung auf Blutplatte das Hämolysierungsvermögen geprüft. Der Versuch wurde 3 Monate lang fortgeführt. Das Ergebnis war, daß bei keinem der Stämme Hämolysierungsvermögen verschwand. Bei 2 Stämmen erschien es einmal weniger ausgeprägt als sonst, doch darf solchen geringen Unterschieden angesichts der unkontrollierbaren Schwankungen in der Zusammensetzung der Nährböden kein Gewicht beigelegt werden.

Als Gegenstück zu dieser Versuchsreihe wurden in einer zweiten

10 nichthämolytische Stämme täglich von Blutplatte zu Blutplatte überimpft. Auch dieser Versuch erstreckte sich über 3 Monate. Unter den 10 Stämmen befanden sich 2 ursprünglich hämolytische, die, seit mehreren Jahren im Laboratorium fortgezüchtet und zuletzt seit vielen Monaten nicht überimpft, bei der Nachprüfung sich als nicht mehr hämolytisch erwiesen.

Während die übrigen 8 Stämme während der gesamten Versuchsdauer niemals auch nur eine Andeutung von hämolytischem Wachstum erkennen ließen, trat bei dem einen der genannten 2 Stämme nach 8 Wochen das Hämolysierungsvermögen wieder auf und blieb für den Rest der Versuchsdauer erhalten.

Bei dem zweiten dieser Stämme erfolgte die Rückkehr des Hämolysierungsvermögens bereits nach 5 Wochen. Es blieb dann 3 Wochen lang erhalten, um dann wieder trotz Fortzüchtung auf der Blutplatte zu verschwinden und in den folgenden 5 Wochen nicht wieder aufzutreten.

Bei diesem Stamme wurde noch eine weitere interessante Beobachtung gemacht. 8 Tage, bevor bei ihm die Hämolyse auf der Blutplatte auftrat, war eine Bouillonkultur angelegt worden. Diese lieferte nach 2tägigem Wachstum beim Ausstreichen auf der Blutplatte und noch deutlicher bei Verarbeitung zur Blutgußplatte hämolytische Kolonien. Es wurde zunächst vermutet, daß das Wiederauftreten des Hämolysierungsvermögens einfach durch das Wachstum in Bouillon verursacht worden war. Als aber der alte Laboratoriumsstamm in gleicher Weise behandelt wurde, war das Ergebnis ein negatives. Man muß daher annehmen, daß die auf den Blutplatten fortgezüchtete Kultur sich bereits in einem labilen Uebergangsstadium befand, so daß sich beim Ueberimpfen auf das neue Medium das Hämolysierungsvermögen sofort einstellte, während dies bei der Fortzüchtung auf der Blutplatte erst einige Tage später erfolgte. Das plötzliche Auftreten und Wiederverschwinden des Hämolysierungsvermögens läßt ja überhaupt einen eigentümlichen Labilitätszustand bei diesem Stamm erkennen.

Bemerkt sei noch, daß die Agglutinabilität des Stammes im hämolytischen und nichthämolytischen Zustand keinen Unterschied erkennen ließ.

Zusammenfassung.

Aus der Gesamtheit meiner Versuche läßt sich wohl der Schluß ziehen, daß das Hämolysierungsvermögen der hämolytischen Coli-Bazillen eine bemerkenswerte Konstanz aufweist. Es wird von den Stämmen, die es besitzen, auch bei langdauernder Fortzüchtung außerhalb des Organismus auf blutfreien Nährböden festgehalten. Geht es einmal ausnahmsweise verloren, so scheint es unter geeigneten Bedingungen verhältnismäßig leicht wiedergewonnen zu werden.

Auf der anderen Seite scheint eine Neuerwerbung des Hämolysierungsvermögens von sicher nicht hämolytischen Stämmen, wenn überhaupt, so zum mindesten außerordentlich schwer zu erfolgen; wenigstens konnten wir sie unter Bedingungen, unter denen sie bei Streptokokken und Enterokokken verhältnismäßig leicht zu erzielen ist, nicht beobachten.

Es erscheint daher berechtigt, den hämolytischen Coli-Bazillus auch in kultureller Beziehung als einen Sondertypus anzusehen.

Literatur.

1) Meyer, Kurt u. Löwenberg, W., Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 19. S. 836. — Löwenberg, W., Ztschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. 41. 1924. S. 89. — 2) Dudgeon, L. S., Wordley, E. u. Bawtree, F., Journ. of Hyg. Vol. 20. 1921. p. 137; Vol. 21. 1921. p. 169. — 3) Bitter, L. u. Gundel, M., Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 57. S. 2041. — 4) Bitter, L. u. Gundel, M., Klin. Wochenschr. 1925. Nr. 29. S. 1395. — 5) Löwenberg, W., Klin. Wochenschr. 1925. Nr. 45. S. 2155. — 6) Th. Schmidt, dieses Centralbl. Bd. 50. 1909. S. 359. — 7) Rosenthal, E., Ztschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. S. 569. — 8) Tinozzi, F. P., Klin. Wochenschr. 1925. Nr. 21. S. 1017.

Beobachtungen über Culiciden, nebst Bemerkungen über Tabaniden, Simuliden und Chironomiden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

1. Culciden. (Ende Oktober 1924 bis Ende Oktober 1925.)

a) Beobachtungen in den verschiedenen Jahreszeiten. Am 7. Nov. 1925 (Lufttemp. +7°, Wassertemp. +10°) waren in den Pfützen von Vidy sehr zahlreich sehr junge Larven von Culex nemorosus, C. pipiens und A. bifurcatus, sowie zerstreut diejenige von Th. annulata. Von A. maculipennis habe ich nur 1 große Larve gefunden, nur hier und da Puppen von Th. annulata und 1 Puppe von C. pipiens. Die Larven von Th. annulata, ins Laboratorium gesetzt (Lufttemp. +17—18°), entwickelten Puppen Ende Januar 1925, Imagines am 3. Februar. Die Larven von A. bifurcatus, die im Laboratorium gelebt hatten, waren im Februar von derselben Größe wie diejenigen, die in Vidy überwintert hatten.

Der Winter 1924/25 war charakterisiert durch sehr große Trockenheit; die meisten Pfützen waren ganz ausgetrocknet. Im ganzen Winter habe ich nur 1 Larve von Culicinen gefunden, und zwar nur in einer Pfütze viele Larven von A. bifurcatus und von Sayomyia. Diese Larven waren im Februar ebenso groß wie im Dezember. Im März waren die letzten Pfützen eingetrocknet. Erst im Mai entwickelten sich in dem See des Parks Bourget die ersten Larven von Culiciden, An. bifurcatus und A. maculipennis, die die ersten Puppen im Juni entwickelt haben. Am 2. Juli (Lufttemp. +24°, Wassertemp. +24°) waren die Larven von C. pipiens, Th. annulata, A. bifurcatus und A. maculipennis auch sehr zahlreich und blieben dies auch im August, September und Oktober. Larven von C. pipiens, die am 3. Sept. gesammelt und ins Laboratorium gesetzt wurden, haben 109 Weibchen und 69 Männchen entwickelt. Am 30. Oktober 1925 (Lufttemp. +11°, Wassertemp. +12°) waren Puppen und große Larven von Th. annulata zahlreich, sehr zahlreich sehr

junge Larven von Culex und speziell von A. bifurcatus, sehr selten aber die großen Larven von A. maculipennis.

Seit einer langen Reihe von Jahren haben das erste Mal die Larven von Culicinen wegen der Austrocknung vieler Pfützen in Vidy nicht überwintert.

b) Beobachtungen über Brutplätze der Culiciden. In einem Orte ist die Trockenheit nicht genügend, um die Culiciden zu zerstören, wenn nur einige Gewässer bleiben, was auch dieses Jahr sehr gut zeigt. In der Tat haben sich die Culiciden in den nicht eingetrockneten Pfützen viel mehr entwickelt. So waren z. B. im See des Parkes Bourget, wo in früheren Jahren Culicinen und A. bifurcatus selten waren, in diesem Jahre diese Arten sehr zahlreich. Theobaldia annulata hat dieses Jahr sich in Kanälen mit fließendem Wasser und einer Vegetation von Schilf entwickelt. Eine kleine Pfütze von 40×30 cm mit 7 cm Wasser enthielt Tausende Larven und Puppen von C. pipiens.

Ein sehr kleiner Kanal mit sehr wenig Wasser und starker Vegetation war in diesem Jahre ein sehr wichtiger Brutplatz für C. pipiens, A. bifurcatus und A. maculipennis.

c) Beobachtungen über die Biologie und Verbreitung der Culiciden. Aëdes gallii gab mir Gelegenheit, die Einwirkung von nicht ganz gleichmäßig von Wind und Sonne betroffenen Gewässern auf die Entwicklung der Culiciden zu studieren. Am 25. Juli 1925 waren in einer kleinen Pfütze etwa 25 m südseits vom Grubensee mit einer Wassertemperatur von $+6^0$ die Larven von Aë. gallii sehr zahlreich, Puppen fehlten. Im Grubensee (Wassertemp. $+10^0$) waren die Larven sehr selten, aber es fanden sich Tausende und aber Tausende Puppen. In einer Pfütze nördlich vom Grubensee (Wassertemp. $+6^0$) waren die Larven zahlreich, aber Puppen fehlten. Erst am 31. Juli erschienen die ersten Puppen in dieser Pfütze. Am 5. August waren die ersten Puppen alle entwickelt. Hier muß aber bemerkt werden, daß die sehr zahlreichen Imagines, die am Grubensee fliegen und stechen, immer nur da lokalisiert blieben und nie bis nach Gruben. etwa 1 km weit, gehen. Dies spricht sehr für die Vermutung, daß die Culiciden da lokalisiert bleiben, wo sie sich entwickelt haben. Und doch dabei finden die Imagines von A. gallii, die so stark die Menschen angreifen, sehr selten Menschen am Grubensee, wogegen sie sehr viele in Gruben angreifen könnten.

Prof. W. H. Hoffmann war nochmals so liebenswürdig, mir Eier von St. fasciata in Briefen von Habana zu schicken. Am 16. April 1925 waren sie von Kuba abgeschickt und am 30. April in Lausanne angekommen. Sie wurden sofort in Wasser von 25^0 gesetzt und haben am 4. Mai Larven, am 15. Mai Puppen und am 19. Mai Imagines gegeben. Eier, die am 20. Mai abgeschickt, am 4. Juni angekommen und sofort in Wasser von 22^0 gesetzt worden waren, haben am 8. Juni Larven, am 11. Juli Puppen und am 20. Juli Imagines gegeben; so brauchen also bei 25^0 vom Ei bis zu den Imagines die Stegomyien 20 Tage, bei 22^0 50 Tage.

Weibchen von St. fasciata, die mit Syrup und Früchten. und Weibchen von C. pipiens, die mit defibriniertem Hammelblut genährt waren, haben keine Eier gelegt.

d) Bekämpfung der Culiciden. Daß Wasserkäfer Larven und Puppen von Culiciden angreifen und zerstören, ist sehr bekannt

durch Laboratoriumsexperimente. Aber in Tümpeln ist es schwer, die Sache zu untersuchen. Im Sommer dieses Jahres, als ich am Grubensee war, habe ich bemerkt, daß einige Exemplare von Agabus solieri die Puppen von A. gallii angriffen, um sie zu fressen.

2. Tabaniden.

Auf den Alpenwiesen waren im Sommer 1925 die Bremsen sehr selten. Während sie im Sommer 1921 und 1924 zu Tausenden und aber Tausenden vorkamen, waren in diesem Jahre nur einige Exemplare zu finden. Die Ursache davon liegt wahrscheinlich in den großen Schneefällen im Frühling nach einem fast schneelosen Winter, wodurch sie in ihrer Entwicklung gestört worden sind. Nur am 6. Juni habe ich auf den Walliser Alpen die erste Bremse und am 30. Sept. die letzte gefunden. Es ist von Interesse, daß die Ziegenhirten sehr gut wissen, daß die Bremsen mehr die braunen als die weißen Ziegen angreifen. Die ersteren sollen sich im Sommer in Wäldern verstecken, um so den Bremsen zu entwischen.

3. Simuliden und Chironomiden.

Auch Simulium gallii war im Sommer 1925 auf den Alpen sehr selten und kamen nur in vereinzelten Exemplaren vor. Die 1. habe ich am 6. Juni, die letzte am 1. Nov. gefunden. Sie vermeiden sehr Feuer und Tabakrauch und ziehen Sonne dem Schatten vor. Ende Juni und im Juli war Simulium ornatum Mg.[1] eine Plage in einigen Gärten von Lausanne. Sie stachen in der Sonne und erzeugten große Anschwellungen mit starkem Jucken und Schmerzen. Die Patienten hatten Fieber und konnten nicht mehr schlafen. Nur bei einem Kollegen, der vor einigen Jahren von S. ornatum gestochen worden war, waren die Erscheinungen nicht so stark, wahrscheinlich wegen einer relativen Immunisation.

Als ich am 8. Aug. 1925 Gelegenheit hatte, nochmals den Bortersee (2700 m) zu besuchen, suchte ich nochmals die Coryoneura innupta Ed., die im letzten Jahre in großen Schwärmen flog[2]. In diesem Sommer war sie aber selten, während eine Art von Tanytaesus[1] sehr zahlreich war. Von Interesse ist noch, daß an den Ufern des Sees eine Spinne[3] sehr zahlreich war; Netze, die zwischen Felsblöcken gespannt waren, waren ganz voll von Exemplaren von Tanytaesus. Es wäre vielleicht möglich, die Netze der Spinnen an den Ufern von Alpenseen nutzbar zu machen, um speziell kleine Dipteren zu suchen und zu studieren.

---

1) Ich danke Herrn Edwards für die freundliche Untersuchung dieser Arten.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 313.

3) Araneus ceropegius Walck oder Ar. carbonarius L. Koch. Nach freundlicher Mitteilung von Prof. Bedot (Genf).



Ueber die Komplementwirkung des Blutplasma.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.]

Von **Felix Klopstock.**

Ich habe wiederholt[1]) zu der Frage der Natur des Komplements Stellung genommen und zu erweisen versucht, daß die Komplementwirkung nicht an einen chemisch greifbaren und isolierbaren Körper gebunden, sondern an die kolloidale Zustandsform des Serum geknüpft ist. Ich wies darauf hin, daß die Komplementinaktivierung durch physikalische Einflüsse, wie durch Altern, Erwärmen, Schütteln zu der Auffassung der Abhängigkeit der Komplementwirkung von einem kolloidalen Lösungszustande drängt, daß die Beziehungen zwischen Komplementfunktion und einem bestimmten Elektrolytgehalt und Temperatur, Verdünnungsgrad, Reaktion nur mit einer solchen Vorstellung verständlich werden, und zeigte, wie die Einführung kolloidal gelöster Körper abhängig von ihrer physikalischen Individualität und ihrer Konzentration die Komplementfunktion aufzuheben vermag. Mittels eines Farbstoffversuchs konnte ich dartun, daß sich die Lehre von der komplexen Konstitution des Komplements in diese Auffassung einfügt und die Komponenten des Komplements der kolloidchemischen Struktur des Serumeiweiß entsprechen. Schließlich habe ich zur Darstellung gebracht, daß auch die Wirkungsweise der Hämolysine und Bakteriolysine hiermit eine Klärung erfährt, daß es sich bei ihnen um nichts anderes handelt, als um Fermente, deren Wirkung an eine bestimmte kolloidale Zustandsform gebunden ist.

Es scheint mir nun für die Berechtigung dieser Auffassung von großer Bedeutung zu sein, wie sich die Komplementwirkung des Plasma zu der Komplementwirkung des Serums verhält. Die kolloidale Zustandsform des Plasma wird ja durch den Gerinnungsprozeß erheblich alteriert und ist im Serum nur unvollkommen erhalten. Insbesondere ist von großem Interesse, ob die Komplementfunktion des Plasma von der gleichen Labilität ist, wie die des Serum und in wenigen Tagen schwindet, oder etwa die Hinfälligkeit der Serumwirkung erst infolge der durch die Gerinnung ausgelösten Alteration zustande kommt.

Es liegen bereits aus älterer Zeit Arbeiten über die Komplementwirkung des Plasma vor. Sie sind fast durchweg mit dem Ziele ausgeführt worden, zur Entscheidung zu bringen, ob die Komplemente bereits frei in der Blutflüssigkeit zirkulieren oder erst durch den Zerfall der Leukozyten zur Bildung gelangen. Eine ausgiebige Darstellung der älteren Literatur und Stellungnahme zu der ganzen Frage findet sich bei S c h n e i d e r[2]). Er sieht nach seinen Untersuchungen die Frage der Präexistenz des Alexins im strömenden Blute im positiven Sinne gelöst; eine extravaskuläre Bildung der im Serum wirksamen Stoffe kann nach ihm ausgeschlossen werden, nachdem die

1) Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 35 u. 51. 1925. Nr. 15 u. Biochem. Ztschr. Bd. [illegible]. 1924. H. 3/4.

2) Arch. f. Hyg. 1908. Bd. 65.

verschiedensten Modifikationen bei der Gewinnung keinen Einfluß auf die hämolytische und bakterizide Kraft der Sera und Plasmen gezeigt haben. Entscheidend für seine Auffassung ist aber der Nachweis, daß auch die plättchen- oder vielmehr anthrakocidinfreien Blutflüssigkeiten in ihrer Wirksamkeit mit den entsprechenden Seris völlig übereinstimmen. Vielfach (auch von Schneider) ist zur Entscheidung dieser Frage die Punktion der vorderen Augenkammer und die Untersuchung des leukozytenfreien Humor aqueus herangezogen worden.

Weiterhin haben auch die älteren Arbeiten über die spezifische Hämolyse in vivo die Komplementwirkung der Blutflüssigkeit zum Gegenstand. R. Muir und Mc. Nu Nee[1]) betonen, daß im lebenden Körper durch ein und dieselbe Dosis des Immunkörpers eine viel stärkere Blutzerstörung eintritt, als der Auflösung der Blutzellen in vitro entspricht. Sie injizierten stets die gleiche für die Hämolyse in vitro notwendige kleinste Menge des Immunkörpers zusammen mit den roten Blutkörperchen und fanden, daß die Auflösung über die Hämolyse der injizierten roten Blutkörperchen hinausgeht.

An Methoden, die Gerinnung zu verhindern und zu einem brauchbaren Blutplasma zu gelangen, standen mir zur Wahl: 1) Das Auffangen des Blutes in paraffinierten Röhrchen. Dieses Verfahren hat sich mir nicht bewährt. Unregelmäßigkeiten der Paraffinoberfläche, wenige Staubkörnchen haben ein Mißlingen des Versuchs zur Folge. Das erhaltene Plasma geht allmählich in den Gelzustand über. 2) Versetzen des frisch entnommenen Blutes mit Hirudin. Das Hirudin Jakobi (E. Sachsse u. Co., Leipzig) stellt ein brauchbares Präparat dar. 1 mg Hirudin hält 7,5 ccm frisch entnommenes Blut flüssig. Das Blut wurde in einer mit physiologischer Kochsalzlösung frisch hergestellten Hirudinlösung aufgefangen, zentrifugiert und das erhaltene Plasma im Hämolyseversuch auf seine Komplementwirkung geprüft. 3) Auffangen des Blutes in einer die Gerinnung verhindernden Salzlösung, spez. Citratlösung. Auch diese Methode hat sich mir als brauchbar erwiesen und ist der Billigkeit halber in meinen Versuchen fast durchweg zur Anwendung gebracht worden. Das von mir geübte Verfahren verlief im einzelnen folgendermaßen: Entnahme von 2 ccm Blut durch Herzpunktion (Meerschweinchen). Aufziehen entweder in einer teilweise mit Citratlösung gefüllten Spritze oder Einspritzen des entnommenen Blutes in ein mit Citratlösung gefülltes Zentrifugenröhrchen. Herstellung einer Verdünnung 2:11 (2 ccm Blut zu 9 ccm Citratlösung), da 2 ccm Blut annähernd 1 ccm Plasma ergeben, somit eine Plasmakonzentration entsteht, die etwa der üblichen Serumverdünnung 1:10 entsprechen muß. Verwendung einer Citratkonzentration von 0,3 Proz. in physiologischer Kochsalzlösung, da sich mir beim Meerschweinchen eine 0,2proz. Natriumcitrat-Konzentration in dieser Verdünnung als schwächste gerade noch die Gerinnung verhindernde Konzentration ergab (beim Menschen liegt die Grenzdosis etwas höher). Abzentrifugieren der roten Blutkörperchen und Absaugen der Plasmaverdünnung. Es ist die Verwendung rostfreier Kanülen und staubfreier Spritzen erforderlich; es empfiehlt sich, Blutentnahme und -verdünnung rasch vorzunehmen; Vermeidung jeder Schaumbildung ist zweckmäßig. Bei vollkommenem Mißlingen des Versuchs ist ein spinnwebenartiges Gerüst oder Gelbildung über den abzentrifugierten roten Blutkörperchen vorhanden. Eine teil-

---

1) Journ. of Bact. and Path. 1912. Vol. 16 and 17.

weise Fibrinbildung ist durch das Auftreten von Trübungen und Flockungen gekennzeichnet. Untersuchungen über Plasmakomplementwirkung dürfen nur mit klaren Lösungen erfolgen.

Die gewonnene Plasmalösung entspricht in der Tat in ihrer Komplementfunktion einer Serumkonzentration 1:10. Die Austitrierung wurde in der Weise vorgenommen, daß von dem gleichen Tiere Serum und Plasma gewonnen wurde und entweder bei gleichbleibender Komplementdosis fallende Mengen Hämolysins oder fallende Komplementmengen gegenüber einer gleichbleibenden Hämolysindosis zur Anwendung gelangten; die Serumverdünnung mußte dabei gleichfalls mit 0,3 Proz. Natrium citr. enthaltender physiologischer Kochsalzlösung hergestellt werden, um einen wirklichen Vergleichswert zu erhalten; jede Veränderung des Elektrolytgehalts des Serums ruft ja eine Verzögerung und leichte Hemmung der Komplementwirkung hervor.

Meine Erwartung, daß die Hinfälligkeit der Komplementwirkung des Serums erst durch den Gerinnungsprozeß und die hierdurch ausgelöste Veränderung des kolloidalen Systems hervorgerufen wird, wurde erfüllt. Die Komplementwirkung des Plasma hält sich, wenn bei der Gewinnung mit möglichster Sterilität vorgegangen wird, und Aufbewahrung im Eisschrank erfolgt, viele Wochen hindurch! Sie nimmt erst ganz allmählich mit sichtbarer Trübung des Plasma ab. Es ist nach vier Wochen noch eine erhebliche Komplementwirkung vorhanden, auch nach 8 Wochen ist noch Komplementwirkung nachweisbar. Die Dauer der Haltbarkeit ist verschieden und einmal davon abhängig, ob es gelungen ist, die Lösung steril zu erhalten, dann in welcher Zeit das „Altern" der kolloidalen Lösung erfolgt, was offenbar bei verschiedenen Plasmen nicht zu gleicher Zeit einsetzt. Getrocknetes Plasma besitzt eine vielmonatige Haltbarkeit; das getrocknete Hirudinplasma zeichnet sich durch bessere Löslichkeit aus als das Citratplasma.

Im übrigen steht die Empfindlichkeit der Plasmakomplementwirkung der des Serumkomplements keineswegs nach. Die gebräuchlichste Methode der Seruminaktivierung (Erhitzen auf 56°) führt auch zu einer vollkommenen Inaktivierung des Plasma. Gegen Schütteln im Schüttelapparat ist das Plasmakomplement empfindlicher als das Serumkomplement. Alle chemischen Einwirkungen, die das Serumkomplement hemmen oder inaktivieren, hemmen oder inaktivieren auch das Plasmakomplement. Einführung kolloidal gelöster Substanzen, wie etwa Farbstoffe, Lipoide, insbesondere des Wassermann-Antigens, erweisen eine größere Empfindlichkeit des Citratplasma als des Serums. Bei einer Bestimmung der selbsthemmenden Dosis eines Wassermann-Antigens tritt stets bei geringerer Dosis Hemmung der Plasmakomplementwirkung, als der Serumkomplementwirkung ein: Die inaktivierende Dosis beträgt für das Citratplasma etwa $^2/_3$ bis zur Hälfte der für das Serum geltenden Dosis. Feinste Gerinnungsprozesse, wie einige Trübungen oder Flocken, sind imstande, die Empfindlichkeit des Plasma noch weiter zu steigern und die selbsthemmende Dosis zu verkleinern, oder zu nachträglichen Gelbildungen Anlaß zu geben. Plasmakonzentrationen 1:6 oder gar 1:4 in 0,3 Proz. Citratlösung können bei ihrer Verwendung in der Komplementbindungsprobe in den Gelzustand übergehen.

Dieser Befund der relativen Stabilität des Plasmakomplements beim Stehenlassen erscheint mir von erheblicher theoretischer Be-

deutung. Ich sehe in diesem unterschiedlichen Verhalten des Plasmakomplements gegenüber dem Serumkomplement einen neuen Beweis dafür, daß die Komplementwirkung nicht etwa an irgendeine labile chemische Substanz, sondern an einen kolloidalen Lösungszustand geknüpft ist. Alle Versuche, die Komplemente aus dem Blutserum zu isolieren und ihre chemische Konstitution festzustellen, sind mißglückt! Die Lehre von der komplexen Konstitution des Komplements hat die Existenz einer dritten Komponente von wieder unbekannter Natur zu Hilfe nehmen müssen! Niemals ist der Nachweis eines aus drei Komponenten bestehenden Aggregats Antigen—Antikörper—Komplement gelungen (ich erinnere daran, daß Wassermann bei seiner Bestätigungsreaktion nur einen aus Antigen und „Wassermannsubstanz" bestehenden Komplex hat nachweisen können und sich mit der Annahme begnügen mußte, daß das Komplement inzwischen verbraucht ist!).

Alle experimentellen Ergebnisse fügen sich nur der Auffassung ein, daß die Komplementfunktion einer kolloidalen Zustandsform zukommt.

Das Resultat ist jedoch auch von erheblicher praktischer Bedeutung. Einmal besteht die Möglichkeit, daß sich insbesondere kleinere Laboratorien nur einmal innerhalb 2 Wochen Plasmakomplement herstellen und die Komplementbindungsprobe nicht mit Serum, sondern mit Plasma anstellen. Es ist allerdings eine Neueinstellung der Wassermann-Antigene hierzu erforderlich; es besteht dabei die Notwendigkeit, ausschließlich Plasmaverdünnungen zu gebrauchen, die völlig frei von Gerinnungsvorgängen sind; Fibrinflocken sind imstande, unspezifische Hemmungen auszulösen. — Vor allem aber: Bisher haben sich die serodiagnostischen Methoden, die mit aktivem Serum arbeiten, wegen der Hinfälligkeit der Komplementwirkung nicht allgemein einführen können. Die Möglichkeit, durch Auffangen des Blutes in einer die Gerinnung verhindernden Lösung zu einem stabileren kolloidalen System mit konstanterer Komplementwirkung zu gelangen, eröffnet den Aktivmethoden neue Ausblicke! Ich bin jedoch noch nicht zu einem abschließenden Urteil gelangt, ob es mit Hilfe des Plasma gelingt, eine größere Reaktionsbreite der Komplementbindungsprobe zu erreichen. Unter den mir auf meine Aufforderung eingesandten Plasmen von Lues, Tabes und Paralyse und auch von Tuberkulose war eine größere Anzahl, die von Gerinnungsvorgängen nicht frei geblieben war oder bei dem Versuch in den Gelzustand überging. Ueber die Komplementbindungsprobe mit aktivem Plasma an Stelle des aktiven Serums werde ich daher später erneut berichten.

Zur Gramschen Färbung[1]).

Hat das der Grampositivität zugrunde liegende Lipoproteid der Hefezelle seinen Sitz in der Zellmembran oder im Protoplasma?

Von **Josef Schumacher**, Berlin.

Mit 1 Tafel.

Vor kurzem[2]) konnte auf färberisch analytischem Wege mit den Methoden der Histochemie der Nachweis geführt werden, daß die Hefezelle und viele andere Mikroorganismen ihre Grampositivität dem Vorhandensein eines Lipoproteids, einer Lipoideiweißverbindung, in ihrem Zelleib verdanken. Schlug auch der Versuch, die Hefezelle lediglich durch Behandlung mit starken Säuren gramfrei zu machen, fehl, weil dadurch zwar das Lipoproteid hydrolytisch aufgespalten wurde, der saure Anteil des Lipoproteids, die wasserunlösliche Lipoidsäure, aber keine Gelegenheit hatte, die Zelle zu verlassen so gelangte man sofort zum Ziel, als man alkoholische Salzsäure auf die Hefezellen längere Zeit zur Einwirkung brachte. Dadurch, daß es fernerhin gelang, die Lipoidsäure aus dem Salzsäure-Alkoholgemisch zu isolieren, und sie auch außerhalb der Zelle grampositiv befunden wurde, war der Nachweis geführt, daß die Grampositivität der Hefezelle an das Vorhandensein dieser Lipoidsäure, resp. ihres Eiweißsalzes, des Lipoproteids gebunden war.

Unbeantwortet wurde damals die Frage gelassen, in welchem Teil der Zellen dieses Lipoproteid seinen Sitz hatte. Gutstein[3]) schließt aus seinen Untersuchungen, daß die der Gramschen Färbung zugrunde liegende Lipoideiweißverbindung[4]) ihren Sitz im Ektoplasma haben

---

1) S. auch Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. 561.

2) „Zur Gramschen Färbung." (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. S. 266—268.)

3) Vortrag v. d. Berl. Mikrobiol. Ges. Jan. 1925. (Sitzgsber. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. 561.)

4) Gutstein bediente sich bei seinen Untersuchungen zuerst der Salzsäurehydrolyse, der er die Alkoholextraktion folgen ließ. Aus diesen seinen Untersuchungen konnte er naturgemäß in keiner Weise den Schluß ziehen, daß der Gramschen Färbung eine Lipoideiweißverbindung zugrunde liegt, was er besonders in der Diskussion zu meinem Vortrag v. d. Berl. Mikrobiol. Ges. Nov. 1924 betonen zu müssen glaubte. Es konnte ja gerade so gut eine andere chemische Substanz, die die Grampositivität der Hefezelle verursachte, durch die Hydrolyse mit Salzsäure und nachfolgender Alkoholbehandlung aus der Zelle entfernt worden sein. Diesen Schluß vermochte Gutstein daher auch in seinem erwähnten Göttinger Vortrag nicht zu ziehen und vermag dies erst jetzt, nachdem durch meine Untersuchungen der Beweis dafür erbracht worden war. Vor der Isolierung der Lipoidsäure aus der Hefe, und bevor feststand, daß nach Entfernung aller hydrolysierbaren sauren Zellinhaltsstoffe durch eine nachfolgende Färbung mit den Farbstoffen der Fuchsinreihe Lipoide nachgewiesen werden können (Dermat. Wochenschr. Bd. 79. S. 1457), und bevor dieser Beweis auch makrochemisch geführt worden war, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. 334 (Demonstration des Verhaltens der gebräuchlichsten Farbstoffe gegenüber Lezithinätherlösungen), konnte ein solcher Schluß nicht gezogen werden. Eigene Methoden zum Nachweis der Lipoide hat Gutstein aber bis jetzt nicht bekanntgegeben. Das von ihm zum Lipoidnachweis ostentativ herbeigezogene Sudan ist hierzu nicht geeignet, einmal, weil es auch Fette färbt, des weiteren weil hier Schlüsse auf die chemische Zusammensetzung aus einer einfachen Färbung gezogen werden, was ebenso unzulässig ist, als wenn man aus einer einfachen Färbung mit den Farbstoffen der Fuchsinreihe

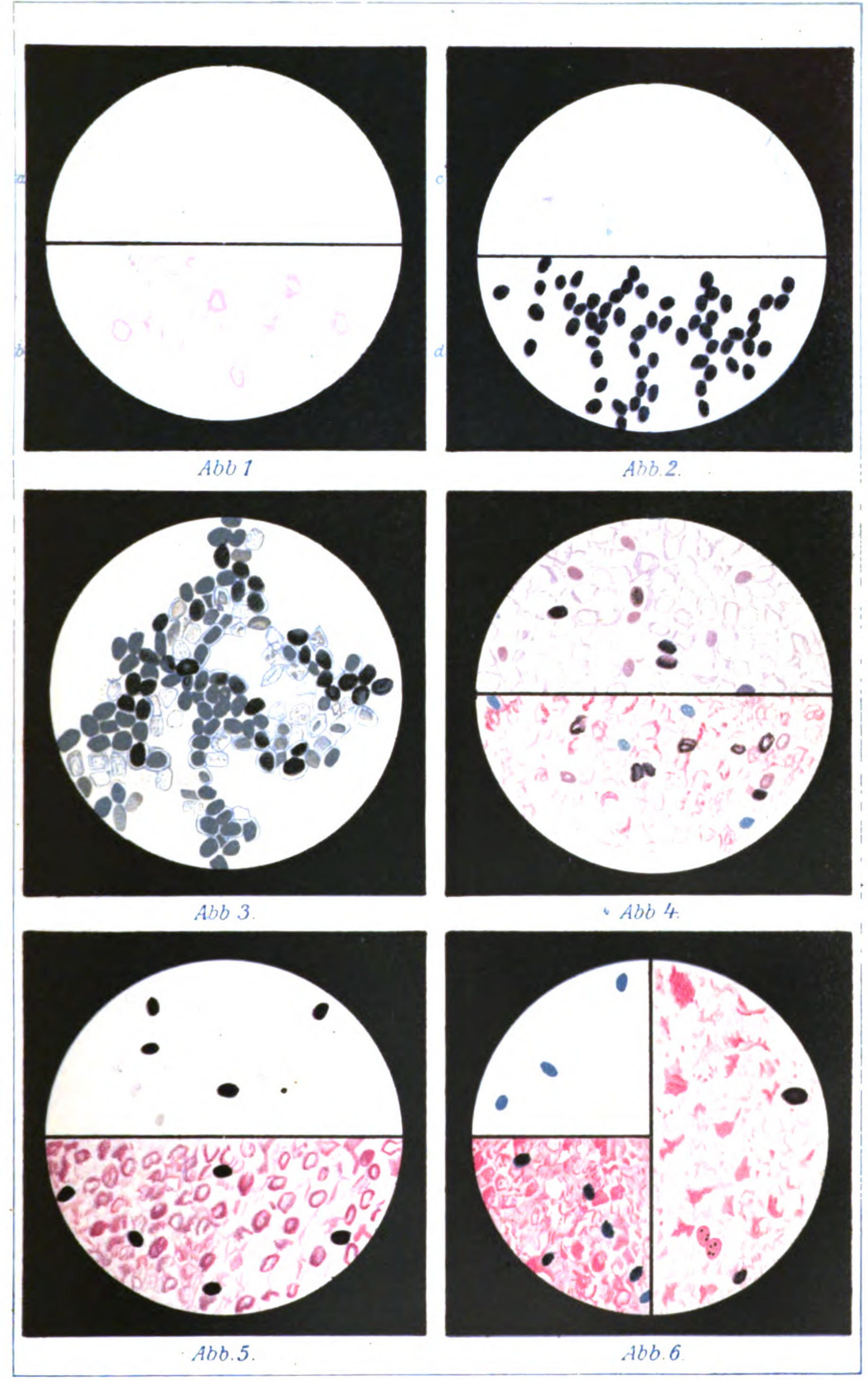


Abb. 1. Abb. 2.

Abb. 3. Abb. 4.

Abb. 5. Abb. 6.

müsse („das Ektoplasma ist gramfest"), da seine Hefezellen keine Ektoplasmafärbung (Membranfärbung) mehr gaben, wenn er sie gramfrei gemacht hatte. Weiterhin schließt er aus diesen Beobachtungen, daß das Ektoplasma eine entscheidende Rolle bei der Gramschen Färbung spiele und diese an die Intaktheit des Ektoplamas gebunden sei.

Dieser Ansicht kann man nicht beipflichten, da ja die Möglichkeit vorlag, daß durch die relativ eingreifende Prozedur der Salzsäurehydrolyse in der Siedehitze, deren Gutstein sich bedient, außer dem Lipoproteid auch Bestandteile der Zellmembran weitgehend abgebaut sein konnten, wie das in der Tat der Fall ist. Wir werden gleich beweisen können, daß man imstande ist, das grampositive Lipoproteid von der chemisch nicht veränderten Zellmembran auf mechanischem Wege zu trennen.

Um die Frage zu entscheiden, ob das grampositive Lipoproteid der Hefezelle seinen Sitz im Ektoplasma Gutsteins, in der Zellmembran hatte, oder ob es, wie ich vermutete, hauptsächlich ein Bestandteil des Zellinhaltes bildete, höchstens im untergeordnetem Grade in der Zellmembran vorkam, konnte man verschiedene Wege beschreiten. Bei unseren diesbezüglichen, inzwischen durchgeführten Untersuchungen gingen wir von folgender Voraussetzung aus. Die Hefezelle besitzt sowohl eine wohlausgebildete, doppelt konturierte Membran als auch einen flüssigen Zellinhalt[1]).

Die Membran erkannten wir bereits 1922 als doppelt konturiertes Gebilde deutlich, als wir in früheren Versuchen lebende Hefezellen über Nacht mit einer 1proz. Silbernitratlösung behandelten, in der Zentrifuge das Silbernitrat mit dest. Wasser auswuschen und alsdann die so behandelten Hefezellen mit einer 3proz. Pyrogallolleitungswasserlösung nachbehandelten, wobei Teile des Zellinhaltes hell bis tiefbraun wurden, die Membran dagegen nur schwach hellgelb erschien. Weiterhin sahen wir die Membran der Hefezelle als vollkommen ungefärbtes, doppelt konturiertes Gebilde bei der Vitalfärbung der Hefe mit der dunkelrotbraunen Viktoriablaubase[2]), sahen weiter, daß die farblose Membran noch von einem ganz feinen blauen Saum umgeben war, in dem geringe Mengen eines sauren Lipoids sitzen mußten, da die Färbung bei der Behandlung mit der Viktoriablaubase eintrat und eine Färbung mit dem Viktoriablausalz diesbezüglich nichts bewiesen hätte. Wir erwähnten bei Gelegenheit, daß es sich hierbei offenbar um die „Schleimschicht" der älteren Autoren handelte, die wir fernerhin als Kittsubstanz jetzt bezeichnen. Würde nun die Membran der Hefezelle ein saures Lipoid oder ein Lipoproteid enthalten, so hätte sich die elektiv lipoproteidlösliche Viktoriablaubase in ihr lösen müssen und sie infolge Salzbildung blau erscheinen müssen, wie der in der Tat aus diesem Grunde sich blau färbende lipoproteidhaltige Zellinhalt und die feine Außenschicht, die Kittsubstanz. Das war aber, wie schon erwähnt, nicht der Fall. Wäre ein neutrales Lipoid in der Zellmembran der Hefe vorhanden, so hätte sich die Viktoriablaubase zumindest mit roter Farbe im Tone der freien Base in ihr lösen müssen, die Membran daher rot erscheinen müssen wie eine Lösung der Viktoriablaubase in Oelen oder Fetten, wie das beispielsweise bei der Hefespore unter gewissen Bedingungen der Fall ist (Dermat. Wochenschr. Bd. 79. 1924. S. 1458. Fußnote 2). Auch in Cholesterin-

---

auf die Gegenwart von Lipoproteiden in den Zellen schließen wollte. Solche Schlüsse kann man erst ziehen, wenn eine positive Färbung mit den Farbstoffen der Fuchsinreihe eintritt, nachdem vorher alle anderen sauren sich ebenfalls mit Fuchsin färbbaren Zellinhaltsstoffe durch Hydrolyse entfernt worden sind, der betreffende Zellinhaltsstoff der Hydrolyse mit Mineralsäuren in wässerigen Medien also Widerstand leistete, alkohol- und ätherunlöslich ist, wohl aber bei Anwendung der Salzsäure-Alkohol- oder Salzsäure-Aether-Hydrolyse in Lösung geht und die vorher positive Färbung alsdann negativ ausfällt. Aus diesem Grunde ist auch der Schluß Gutsteins, das Ektoplasma enthalte ein saures Lipoid, weil es durch Färbung mit Viktoriablau nachweisbar sei (dies. Centralbl. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. 562) hinfällig.

1) Demonstr. Berl. Med. Ges. 1922. Med. Klin. 1922. S. 159 ff.

2) Dies. Centralbl. Abt. I. Ref. Bd. 78. S. 333 ff.

äther löst sich die Base mit roter Farbe. Die Tatsache, daß bei dieser Vitalfärbung der Hefe neben der feinen Außenschicht lediglich nur der Zellinhalt sich blau färbte, bewies, daß zumindest ein Zellinhalt vorhanden war, der wahrscheinlich das grampositive Lipoproteid der Hefezelle enthielt, was man aus der eintretenden Blaufärbung mit der Viktoriablaubase vermuten durfte.

Ob der Zellinhalt flüssig war, konnten wir mit dieser Methode noch nicht beweisen. Wir suchten diesen Beweis nun auf andere Art zu führen. Wir nahmen an, wie oben auseinandergesetzt, daß der flüssige Zellinhalt aus der Hefezelle ausfließen müsse, sobald es uns gelang, die Hefezellmembran auf mechanischem Wege zu verletzen. Dann mußte sich ja entscheiden lassen, ob nach Ausfließen des Zellinhaltes die Hefezelle noch grampositiv war oder nicht, und ferner ließ sich die Frage beantworten, ob die Grampositivität an die restierende Zellmembran oder den flüssigen Zellinhalt gebunden war.

Versuch 1: Wir nehmen etwas käufliche Bäckerhefe und verarbeiten diese in der Reibschale mit etwas Wasser zu einer dünnen Suspension. Um die Hefezelle möglichst frei von anhaftenden fremden Stoffen, Nährbodenbestandteilen etc. zu bekommen, waschen wir diese Hefesuspension zirka 5mal mit dest. Wasser in der Zentrifuge. Den nach Abzentrifugieren des Wassers restierenden Hefebrei bringen wir alsdann auf den Tisch eines Gefriermikrotoms und machen 5 μ dicke Schnitte. Dabei war anzunehmen, daß ein Teil der Hefezellen intakt bleibt, ein anderer Teil geschnitten werden mußte. Die so gewonnenen Hefeschnitte fingen wir in einem Becherglas mit dest. Wasser auf und gewannen das Zellmaterial wieder durch Zentrifugieren.

Wir erhalten dabei erstens eine über der Hefe stehende wässerige Flüssigkeit, die eventuell den flüssigen Zellinhalt der geschnittenen Hefe enthalten konnte, zweitens ein Hefezellsediment. An ihm erkennen wir sofort etwas Auffallendes. Es besteht aus zwei Schichten, einer unteren hefegelben und einer sich darüber befindenden rein weißen Schicht. Dieses Sediment haben wir 15—20mal in der Zentrifuge gewaschen zur Entfernung des ihm noch beigemengten Zellinhaltes, wie wir gleich noch sehen werden.

Versuch 2: Wir fertigen uns von dem so gewonnenen Zellsediment Objektträgerausstriche an und färben nach Gram. Entnehmen wir die Zellen vom Boden des Zentrifugenröhrchens aus der hefegelben Schicht, so sind fast alle Zellen noch grampositiv und ungeschnitten, entnehmen wir mehr aus der Mitte, so erhalten wir Bilder, wie sie Fig. 3 wiedergibt. Wir erkennen dabei sofort, daß wir zwei Sorten von verschieden gefärbten Zellen vor uns haben. Ein Teil der Zellen (die intakten) sind grampositiv, ein anderer Teil (die geschnittenen) sind gramnegativ. Mitunter enthalten diese noch etwas hellvioletten, grampositiv gefärbten Zellinhalt. Den Nachweis, daß hier noch etwas Zellinhalt vorliegt, werden wir gleich noch führen. Entnehmen wir aber der weißen obersten Schicht, besonders an den Rändern des Zentrifugenröhrchens ein Präparat und färben es nach Gram, so erhalten wir ein Bild, das Fig. 4 obere Hälfte wiedergibt. Fast alle Zellen sind jetzt gramnegativ und die Zelltrümmer besitzen nur noch einen Schimmer von Gramfarbe, der wahrscheinlich auf die noch vorhandene Kittsubstanz zurückzuführen ist.

Versuch 3: Schneiden wir unvorbehandelte Hefe, die wir alsdann ebenfalls durch Auswaschen mit dest. Wasser von dem beigemengten Zellinhalt befreien, so erkennen wir auch hier grampositive und gramnegative Zellen, dazwischen Exemplare, die nur teilweise ihren Zellinhalt verloren haben und daher schwächer violett gefärbt sind.

Wir erkennen also bereits aus diesem Versuch, daß, wie wir gleich annehmen zu dürfen glaubten, durch das Schneiden nicht alle Zellen getroffen wurden, sondern schätzungsweise höchstens 50 Proz. Die angeschnittenen Zellen haben ihren hefegelben Zellinhalt verloren, den wir gleich wieder finden werden, und erscheinen daher weiß, sind spezi-

fisch leichter geworden und trennen sich daher beim Zentrifugieren von den ihren Zellinhalt noch beherbergenden Zellen, die deshalb spezifisch schwerer sind und die untere Zellschicht repräsentieren.

Wir haben nun den Nachweis zu führen, daß die gramnegativ gewordenen Zellen durch die mechanische Verletzung des Schneidens ihren grampositiven flüssigen Zellinhalt verloren haben. Zu diesem Zweck untersuchen wir in

Versuch 4: das dest. Wasser, in dem wir oben die Hefeschnitte aufgefangen hatten. Wir zentrifugieren zu diesem Zweck die Hefeschnitte ab und erhalten ein opaleszierendes, weiß aussehendes Waschwasser, das dadurch schon seinen Eiweißgehalt verrät. Um diesen sicherzustellen, versetzen wir die Flüssigkeit mit Ferrozyankalium + Essigsäure und erhalten nach kurzer Zeit einen flockigen Niederschlag. Diesen waschen wir einige Male mit dest. Wasser in der Zentrifuge, streichen ihn auf Objektträger aus und färben ihn nach Gram. Er ist stark grampositiv. Um Einwänden zu entgehen, haben wir das Eiweiß auch durch Hitzekoagulation aus dem Waschwasser der geschnittenen Hefe gewonnen. Damit angefertigte Objektträgerausstriche sind ebenfalls grampositiv.

Damit war eigentlich schon der Nachweis geführt, daß die Hefezellmembran gramnegativ ist und die Grampositivität auf dem Lipoproteidgehalt des Zellprotoplasmas beruht. Wir wollten diesen Nachweis aber noch bekräftigen.

Benians zeigte bekanntlich, daß zerriebene grampositive Bakterien nicht gramfest sind und daß gramgefärbte Bakterien durch Zerreiben ihre Alkoholfestigkeit einbüßen. Daraus folgert er die Notwendigkeit einer schützenden Wirkung der Bakterienmembran (?) zur Erklärung der Gramfestigkeit. Dieselbe soll durch Jod bzw. Pikrinsäure für Alkohol impermeabel werden. Warum nur bei den grampositiven, wird nicht erklärt. Daß seine Hypothese nicht alle Erscheinungen der Gramfestigkeit restlos erklärt, verhehlt sich auch Benians selbst nicht, wie Eisenberg in seinen Ausführungen betont[1]).

Wenn Benians gramgefärbte Bakterien durch Zerreiben ihre Alkoholfestigkeit einbüßen sah, so mußte er zufällig einen Bakterienstamm in der Hand gehabt haben, dessen Grampositivität nicht auf dem Gehalt eines Lipoproteides beruhte, sondern in dem ein freies Lipoid vorlag. Bekanntlich sind solche Bakterien durch einfache, genügend lange ausgedehnte Alkoholvorbehandlung bereits gramfrei zu machen.

Um unseren oben angedeuteten Nachweis zu führen, bedienten wir uns einer ähnlichen Technik wie Benians, nahmen aber statt Quarzsand Kieselgur; auch Kalziumkarbonat ist geeignet.

Versuch 5: In einer Reibschale wurden zirka 10 g Hefe mit der 2—3fachen Gewichtsmenge Kieselgur ordentlich geknetet, wobei man schon nach kurzer Zeit folgendes beobachtet. Einmal tritt ein außerordentlich intensiver Hefegeruch auf, der von flüchtigen Hefesubstanzen herrühren muß und offenbar mit dem Ausfließen des Hefezellinhalts zusammenhängt. Zweitens bemerkt man, wie das geknetete Gemisch rasch feucht und teigig wird, was offenbar ebenfalls mit dem Ausfließen des Zellinhaltes zusammenhängt. Alsdann wird nochmals etwas Kieselgur zugegeben und wiederum so lange geknetet, bis die Masse wieder teigig geworden ist. Darauf gibt man so lange dest. Wasser zu, bis das Ganze dünnflüssig geworden ist und zentrifugiert. Dabei erhält man, von oben nach unten gesehen, erstens eine milchig-weiße Flüssigkeit, zweitens einen hefegelben Bodensatz der verarbeiteten Hefe, darunter drittens einen rotgelben Bodensatz von Kieselgur.

---

1) Eisenberg, Theorie der Bakterienfärbung. Handbuch der Mikrobiol. Technik v. Kraus-Uhlenhuth Bd. 1. S. 214. Verlag Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1923.

Wir untersuchen in

Versuch 6: den Bodensatz der Hefezellen, nachdem wir dieselben mindestens 10—15mal mit dest. Wasser in der Zentrifuge gewaschen haben [1]) Wir fertigen uns alsdann von diesem Hefesediment Objektträgerausstriche an und färben diese mit Methylenblau, Fuchsin und nach Gram. Die Zellen färben sich dabei meist überhaupt nicht mehr, sind gramnegativ geworden. Hier und da trifft man noch einmal eine Zelle, die, wie wir gleich beweisen werden, noch etwas Zellinhalt enthält, sich daher sowohl mit Methylenblau (ihres Nukleoproteidgehaltes wegen) (Fig. 1, obere Hälfte) als auch noch mit Fuchsin und nach Gram färbt (des Lipoproteidgehaltes wegen) Fig. 1 unt. Hälfte und Fig. 2 obere Hälfte). In den so gefärbten Zellen ist eine gefärbte Membran! nicht mehr zu erkennen. Lediglich sieht man auch hier, wie bereits bei der Vitalfärbung mit der Viktoriablaubase beobachtet, die feine Außenschicht, die Kittsubstanz, die Spuren eines Lipoids enthalten dürfte. Der große Unterschied zwischen normaler gramgefärbter Hefe (Fig. 2 untere Hälfte) und Hefe, die ihres Inhaltes durch Zerquetschen beraubt worden und dann ebenfalls nach Gram gefärbt worden war (Fig. 2 obere Hälfte), geht aus den Bildern wohl deutlich hervor.

Verwendet man Kalziumkarbonat zur Zertrümmerung der Hefe, so stellt man am besten das kalziumkarbonat- und hefehaltige Zentrifugat, nachdem man es auf Objektträger ausgestrichen und in der Flamme fixiert hatte, einige Sekunden in verdünnte Salzsäure, wobei das Kalziumkarbonat sich löst und die Hefe allein auf dem Objektträger zurückbleibt.

Hierbei erhält man alsdann Bilder, wie sie Fig. 5 obere Hälfte wiedergibt. Dort erkennt man noch 4 grampositive intakte Zellen, außerdem 11 Zellen, die gramnegativ und gerade noch zu erkennen sind, daneben ist aber der größte Teil des Gesichtsfeldes von absolut gramnegativem, völlig ungefärbtem Zellmembranmaterial ausgefüllt, wie sofort Fig. 5 untere Hälfte beweist, wenn man dieses nach Gram gefärbte Material mit Tannin-Safranin [2]) nachfärbt.

Wir haben ja fernerhin in der kürzlich publizierten Viktoriablau-Quecksilberjodidjodkalium-Chininmethode [3]) eine Färbung in der Hand, das Verschwinden des grampositiven Lipoproteids zu kontrollieren. Auch hier erkannten wir die Zellmembranen nicht gefärbt (viktoriablaunegativ), 3 intakte Zellen noch viktoriablaupositiv. Eine andere Zelle gerade noch erkennbar hellblau gefärbt (Fig. 6, obere linke Hälfte). Die Nachfärbung zeigt hier ebenfalls beweisend, daß die Zellmembranen noch zugegen sind (Fig. 6, untere linke Hälfte). Das etwas violettstichige Rot der Fig. 5, untere Hälfte, das noch eine ganz schwache Gram-

1) So lange enthält nämlich das Waschwasser noch Eiweißkörper von dem flüssigen Zellinhalt herrührend. Verreibt man die Hefe mit Kieselgur solange, bis auch bei weiterem Kieselgurzusatz die Masse nicht mehr feucht wird, also offenbar alle Hefezellen zerquetscht sind, dann muß man zirka 18—20mal waschen, bis das Waschwasser eiweißfrei wird. Man findet alsdann fast 100 Proz. der Hefezellen in dem Präparat zerquetscht, nur ganz selten trifft man noch eine der Zerstörung entgangene, normale grampositive Hefezelle dazwischen.

2) Von Gutstein ja gerade zur Darstellung der Zellmembran angegeben. Da die Zellmembran auch bei der mechanischen Zerstörung ihre chemische Substanz, die sie aufbaut, nicht verlieren kann, da diese wasserunlöslich ist, muß noch eine Färbung auftreten, was in der Tat der Fall ist. Gutstein übersieht, daß eine mechanische Verletzung der Zellmembran ihre chemische Zusammensetzung nicht verändern kann.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. S. 397.

färbung verrät, die durch die noch vorhandene feine Außenschicht, die Kittsubstanz, bedingt ist, wie wir schon betonten, schwindet aber ebenfalls, wenn man die Hefe noch weitgehender zertrümmert. Der Ausstrich ist alsdann sowohl makro- als auch mikroskopisch gramnegativ. Die Gegenwart der Zellmembranreste kann auch hier durch die Nachfärbung mit Tannin-Safranin bewiesen werden (Fig. 6, rechte Hälfte).

Technik der weitgehenderen Zertrümmerung: Hefe wird im Brutschrank bei 37° [1]) getrocknet, darauf in der Reibschale möglichst fein pulverisiert. Alsdann wird eine kleine Probe davon im Achatmörser weitgehendst zertrümmert. Alsdann kommt die so gewonnene Hefe (ca. 2 g) in 300 ccm dest. Wasser und wird zur Extraktion des Hefezellinhaltes 1 Std. lang im Schüttelapparat geschüttelt. Durch Abzentrifugieren gewinnt man das zertrümmerte Zellmaterial, was vor der weiteren Verarbeitung noch einige Male mit dest. Wasser in der Zentrifuge gewaschen wird. Resultat: völlig gramnegativ. Aus der Extraktionsflüssigkeit läßt sich, wie oben beschrieben, der Zellinhalt gewinnen. Auf Objektträger ausgestrichen, ist der Niederschlag grampositiv.

Wir haben nun noch den Nachweis zu führen, daß diejenigen Zellen aus dem anfangs erhaltenen Hefezellsediment nach dem Schneiden mit dem Gefriermikrotom, die noch eine teilweise Grampositivität erkennen ließen (Fig. 4, obere Hälfte) wirklich noch etwas Zellinhalt enthalten. Dazu bedienen wir uns in

Versuch 7: der Methodik von Gutstein selbst. Nach seinen Ausführungen [2]) stellt die Karbolmethylenblau-Tannin-Safranin-Methode in der Hefezelle den Zellinhalt blau dar, das Ektoplasma rot. Wir erkennen bei dieser Färbung dieselben Stellen, die in dem vorhergehenden Präparat noch eine teilweise Gramfärbung zeigten, jetzt blau gefärbt als Beweis, daß hier wirklich noch Zellinhalt vorliegt, die von dem Zellinhalt befreiten Hefezellmembranen aber rein safraninrot gefärbt.

Wäre die Grampositivität also an die Zellmembran der Hefezelle gebunden, so müßten die so behandelten, ihres Zellinhaltes beraubten Hefezellen stark grampositiv sein, auch wenn sie, wie beim Schneiden der Hefe, teilweise verletzt sind. Das ist aber nicht der Fall. Wir haben uns auch mit der einfachen Feststellung des gramnegativen Werdens der Hefezellen bei ihrem Verreiben wie Benians nicht begnügt, sondern habe nach der grampositiven Substanz, die offenbar an das Zellprotoplasma gebunden und aus der Zelle ausgetreten war, gesucht. Sie mußte sich ja alsdann in der Hefe-Kieselgurmischung befinden. Wir untersuchten daher zu diesem Zweck die oben bereits erwähnte milchig weiße Flüssigkeit, die wir erhielten, wenn wir das Hefe-Kieselgurgemisch mit Wasser zu einem dünnflüssigen Brei anrührten und zentrifugierten [3]).

---

1) Diese Temperatur muß eingehalten werden, damit das Hefeeiweiß nicht gerinnt, andernfalls es sich nachher nicht mit Wasers extrahieren läßt.

2) „Ueber die färberische Darstellung des Bakterienektoplasmas" (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. S. 393).

3) Der wässerige Auszug des Hefe-Kieselgurgemisches muß bald nach seiner Herstellung untersucht werden, da andernfalls die der Vernichtung entgangenen grampositiven Hefebegleitbakterien in der das grampositive Lipoproteid enthaltenden Flüssigkeit einen äußerst günstigen Nährboden vorfinden und sich in kurzer Zeit üppig vermehren. Auch die Hefe selbst wächst in diesem Medium üppig.

Geben wir zu dieser Flüssigkeit etwas verdünnte Essigsäure und Ferrozyankaliumlösung, so entsteht nach kurzer Zeit ein massiver, flockiger Niederschlag, der in der Zentrifuge etwas durch Waschen mit dest. Wasser von dem Fällungsmittel befreit, auf Objektträger ausgestrichen und hitzefixiert, sich als stark grampositiv erweist. Auch nach 3stünd. Alkoholeinwirkung verliert der gefärbte Niederschlag nicht seine Gramfestigkeit. Ebenso ist der Niederschlag auch grampositiv, wenn wir das Eiweiß nicht mit Essigsäure und Ferrozyankalium niederschlagen, sondern durch einfache Hitzekoagulation gewinnen.

Zu bemerken ist noch, daß die offenbar kolloidale Hefeprotoplasmalösung, die wir auf die beschriebene Art und Weise durch Zentrifugieren des mit Wasser angerührten Hefekieselgurgemisches erhielten, etwas Kieselgur zurückhält, wenn man das Verreiben der Hefe mit Kieselgur forciert und 100 Proz. der Hefezellen zerquetschen will. Dagegen kann man die Eiweißlösung kieselgurfrei erhalten, wenn man auf die vollständige Zerquetschung der Hefezellen keinen so großen Wert legt und weniger lange die Hefe mit Kieselgur verarbeitet, wodurch dieses naturgemäß weniger zerkleinert wird und dann nicht so leicht von der kolloidalen Eiweißlösung zurückgehalten wird. Bei Verwendung von Kalziumkarbonat tritt das weniger störend in Erscheinung.

Das chemische und färberische Verhalten des gewonnenen Eiweißniederschlages.

Färben wir den durch Ferrozyankalium + Essigsäure oder durch Hitzekoagulation gewonnenen Niederschlag des Hefezellinhaltes mit Methylenblau, so färbt er sich dabei naturgemäß blau, da der Hefezellinhalt ja große Mengen Nukleoproteide enthält. Seines Lipoproteidgehaltes wegen färbt er sich auch mit Fuchsin und ist grampositiv. Entfernen wir aber jetzt die Nukleinsäure aus dem Zellprotoplasma auf dieselbe Weise, wie wir früher mit dem in der Hefezelle noch vorhandenen Zellinhalt verfuhren, indem wir die Ausstriche 24 Std. lang in 1:10 verdünnte Salpetersäure stellen, so werden die Nukleoproteide dadurch hydrolysiert, die jetzt wasserlöslich gewordenen Nukleinsäurebruchstücke verlassen daraufhin das Eiweiß und der Niederschlag färbt sich alsdann wie damals in der Zelle nicht mehr mit Methylenblau. Da durch diese Behandlung in wässeriger Lösung die Lipoidsäure des Hefelipoproteids aber den Niederschlag nicht verlassen kann, so behält dieser wie damals der in der Hefezelle noch vorhandene Zellinhalt seine Fuchsinfärbbarkeit. 24stünd. Salzsäure-Alkoholbehandlung aber vernichtet in dem Niederschlag jetzt wie damals bei dem in der Zelle noch vorhandenen Lipoproteid auch die Fuchsinfärbung. Gleichzeitig verliert der Niederschlag dabei wie damals in der Zelle auch seine Gramfestigkeit. Die Reaktionen stimmen also sowohl innerhalb als außerhalb der Zelle überein.

Wir versuchten ferner noch den umgekehrten Beweis für unsere obige Behauptung zu erbringen, daß die Grampositivität an den Zellinhalt gebunden ist. Es war nämlich anzunehmen, daß die Hefezelle beim Schneiden ihren flüssigen Zellinhalt nicht mehr verlieren würde und daher auch das Wasser, in dem wir die Hefeschnitte auffingen, nicht mehr eiweißhaltig war, wenn wir die Hefe vor dem Schneiden in vitro einmal mit Viktoriablau, das andere Mal nach Gram färbten und so die wasserunlöslichen Farbsalze des Lipoproteids herstellten.

Versuch 8: 5 g Hefe wurden mit 50 ccm 1proz. wässeriger Lösung von Viktoriablau B zu einer gleichmäßigen Suspension in der Reibschale verarbeitet, ordentlich geschüttelt und das Ganze 3 Tage stehen gelassen. Darauf wird die Hefe in der Zentrifuge so lange gewaschen, bis das Waschwasser praktisch nicht mehr gefärbt ist, alles überflüssige Viktoriablau also entfernt worden war. Darauf wurde die so behandelte Hefe auf dem Gefriermikrotom geschnitten und die Schnitte in dest. Wasser wie früher aufgefangen.

Wurde jetzt wieder die blau gefärbte Hefe von dem Wasser durch Zentrifugieren getrennt, so enthielt das Wasser jetzt kein Eiweiß mehr, wie man sowohl durch Ferrozyankalium + Essigsäure als auch durch die Kochprobe feststellen kann. Dementsprechend sind in dem Hefesediment auch alle Zelltrümmer viktoriablau gefärbt. Diese können in diesem Versuch nur deshalb tief viktoriablau gefärbt sein, da sie ihren durch die Behandlung mit Viktoriablau koagulierten Zellinhalt noch enthalten müssen. Das wird dadurch bewiesen, daß mit diesem Befund korrespondierend das Wasser, in dem die Schnitte aufgefangen wurden, jetzt eiweißfrei ist. In derselben Weise verläuft ein Versuch mit Fuchsin und der Gramschen Färbung, wobei die Hefezellen jeweils 2 Tage mit Anilin-Gentianaviolettlösung behandelt wurden, in der Zentrifuge die überflüssige Farblösung[1]) ausgewaschen wurde und daraufhin 1 Tag Jodjodkaliumlösung auf die Zellen einwirken gelassen wurde. Nach Auswaschen des Jods und nachfolgender Alkoholbehandlung wurde die Hefe gefriergeschnitten.

Auch hier kann das Waschwasser kein Eiweiß mehr enthalten, da das wasser- und alkoholunlösliche jodierte lipoidsaure Gentianaviolett in der Zelle entstanden ist, weshalb alle Zellen grampositiv gefärbt bleiben müssen, auch nach dem Schneiden mit dem Gefriermikrotom, wie das in der Tat der Fall ist. Selbstverständlich kann der Zellinhalt der Hefe beim Gefrierschneiden auch nicht ausfließen, wenn wir hierzu Hefezellen verwenden, die vorher mit Sublimat oder Sublimat-Eisessig behandelt worden waren. Darum finden wir auch hierbei in dem Wasser, in dem wir die Hefeschnitte auffangen, kein Hefeeiweiß und daher behalten auch hierbei alle Zellen ihre Färbbarkeit.

Gleichzeitig darf hier vielleicht einmal darauf hingewiesen werden, daß durch diese Untersuchungen die Existenz eines Bestandteils der Hefe, ihres Lipoproteids, durch die makrochemische Darstellung bewiesen ist, der zuerst histochemisch aufgefunden wurde.

Wir haben hier auch noch kurz auf die Erwiderungen einzugehen, die Gutstein auf diese bereits im Januar 1925 in der Berl. Mikrobiol. Ges. gemachten Darlegungen vorbringen zu müssen glaubte. „Wenn Herr Schumacher des weiteren behauptet, daß das gramfeste Lipoid nicht im Ekto-, sondern nur im Endoplasma enthalten ist, so muß ich darauf erwidern, daß er gegen die zahlreichen Beweise (!)die ich für meine Behauptungen vorgebracht habe, keinen einzigen stichhaltigen Einwand vorzubringen hat.“ Die Gewinnung des grampositiven flüssigen Zellinhaltes bei zurückbleibenden gramnegativen Zellen, die ihr „Ektoplasma“, wenn auch angeschnitten oder durchlöchert, noch besitzen, ist also nach G. kein „einziger stichhaltiger Grund“. Ferner glaubte G. erwähnen zu müssen: „Dagegen glaubte er (Sch.) seine Behauptungen stützen zu können durch die Bilder, die er an Gefrierschnitten von Hefezellen erhalten hat. Diese Befunde beweisen aber das Gegenteil von dem, was hier Sch.

---

1) Es ist durchaus nicht nötig, daß man auch bei der gewöhnlichen Gramschen Färbung auf dem Objektträger die Präparate aus dem Gentianaviolett ohne Abspülen gleich in das Jod bringt. Im Gegenteil, man vermag viel sauberer zu arbeiten, wenn man die Präparate zwischen jeder Prozedur ordentlich mit Wasser abspült. Die Gramsche Färbung leidet dabei in keiner Weise.

behauptet." Ferner ist es mir nie eingefallen, die Hefe-„Zellen" als einen Kreis zu betrachten, wie Herr G. meint, sondern ich habe in ihr ebenfalls wie er etwas Körperliches gesehen. „Bei Anfertigung von Gefrierschnitten muß also ein Teil des Ektoplasmas als kalottenförmige Fläche im Schnitt enthalten und nach Gram färbbar sein." Das ist aber ja gerade nicht der Fall. Wenn die starke Grampositivität der Hefe an das Ektoplasma gebunden wäre, dann müßte das kalottenförmige Stück nach wie vor stark grampositiv sein, was aber nicht der Fall ist. Eben die Ueberlegung, daß beim Schneiden Hefestücke entstehen müssen, war im Gegensatz, wie Herr G. meint, für mich die Veranlassung, die Hefe zu schneiden, um zu sehen, wie sich die „Kalotte" nachher der Gramfärbung gegenüber verhält. „Würde der Herr Diskussionsredner recht haben", schreibt G. weiter, „d. h. würde das Gramsche Lipoid im Endoplasma sitzen, so müßten sämtliche Zelldurchschnitte bei der Gramschen Färbung total violett gefärbt sein, was aber — wie Herr Schumacher selbst zugibt — nicht der Fall ist." Ja, das wäre der Fall, wenn der Zellinhalt der Hefe fest wäre und nicht flüssig, weshalb er bei verletzten Zellen ausläuft, wie oben nachgewiesen wurde. „Daß die Gramsche Färbung an die Intaktheit des Ektoplasmas gebunden ist, beweist eindeutig der von mir wiederholte Beniansche Versuch." Bei einigermaßen scharfer Selbstkritik hätte Gutstein aber nicht vergessen dürfen, daran zu denken, daß bei diesem Versuch der Zellinhalt ausgeflossen sein und an ihn die Grampositivität gebunden sein konnte, wie wir schon betonten und beweisen konnten.

Zusammenfassung.

Die These Gutsteins, daß die Grampositivität der Hefezelle an die Intaktheit ihres „Ektoplasmas" gebunden sei, und das ihr zugrunde liegende Lipoid dort seinen Sitz haben müsse, wird experimentell widerlegt, indem gezeigt wird, daß gefriergeschnittene Hefezellen gramnegativ werden, weil sie ihren grampositiven Zellinhalt dabei verlieren, der durch Ferrozyankalium + Essigsäure und auch durch Hitzekoagulation als grampositiv sich färbende Substanz außerhalb der Zelle in Großem gewonnen werden kann. Wird der Zellinhalt der gefrierzuschneidenden Hefezellen jedoch vor dem Gefrierschneiden koaguliert, indem die Zellen vorher mit Sublimat und Eisessig behandelt oder in vitro nach Gram oder mit Viktoriablau gefärbt werden, so bleiben sie jetzt auch nach dem Schneiden grampositiv, und dementsprechend ist alsdann in den betreffenden Waschflüssigkeiten kein grampositives Eiweiß mehr nachweisbar.

Abnorme Formen von Malaria tertiana-Parasiten bei Impfmalaria.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (stellvertr. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Schwester **Grete Kühnhold**,
technischer Assistentin am Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

Für die bakteriologischen Kurse wurden dem Institut am 8. 12. 1925 aus der Universitätsnervenklinik freundlicherweise Blutausstriche zur Verfügung gestellt von einem Paralytiker, der mit Malaria tertiana am 21. 11. 25 geimpft war und sich mit 40° Temperatur im Anstieg zum 11. Anfall befand. Der Stamm war von der Nervenklinik aus der Staatsirrenanstalt Friedrichsberg bei Hamburg bezogen worden und hatte in Greifswald bereits drei Menschenpassagen durchgemacht.

Unter den ziemlich zahlreichen Parasiten fanden sich neben den vorherrschenden typischen Tertianaformen (jüngste, bis etwa 6stünd. Ringe, sowie halb bis ganz erwachsene, beginnende und fertige Teilungsformen) eine verhältnismäßig große Zahl abnormer Parasiten: die Teilungsformen entsprachen in fast der Hälfte nicht dem normalen Maulbeertyp, sondern waren ausgesprochen gänseblümchenartig (6 bis 10 Merozoiten). Hätte man nur diese Formen im Blutpräparat gefunden, so wäre die Quartanadiagnose unzweifelhaft zu stellen gewesen. So mußte zunächst die Frage aufgeworfen werden, ob eine Mischinfektion von Tertiana und Quartana vorläge. Dies ist jedoch auszuschließen, da sämtliche vor der Schizogonie stehende Formen in jeder Beziehung dem Tertianatypus entsprachen. Geschlechtliche Formen waren trotz längeren Suchens nicht mit Sicherheit zu finden, man sah nur ganz vereinzelte Formen, die eine gewisse Aehnlichkeit damit aufwiesen.

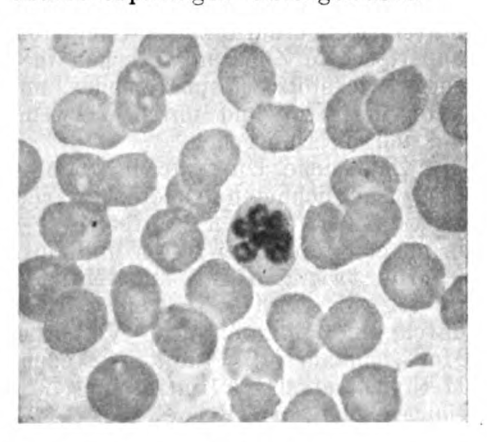


Fig. 1.

Nähere Untersuchungen an einem größeren Material müssen ergeben, ob die beobachteten Abnormitäten mit der Impfmalaria als solcher zusammenhängen. Daß die Chininbehandlung (0,5 g am Tage vor dem 10. Anfall) mit den beobachteten Abnormitäten im Blutbild irgendwie in Zusammenhang steht, ist nach meinen vieljährigen Beobachtungen im Regierungshospital zu Tanga (D.-O.-Afrika) und in Emden nicht anzunehmen. Sonstige chemotherapeutische Behandlung war während der ganzen Dauer der Malariatherapie bei diesem Patienten nicht erfolgt.

Untersuchungen über die Technik der Anaërobenzüchtung.

II. Mitteilung.

[Aus der II. med. Klinik (Vorstand: Professor N. Ortner) und aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien (Direktor: Professor R. Kraus).]

Von **Nikolaus Kovács**, Assistent des Institutes.

Die biologischen Unterschiede zwischen den obligat und fakultativ anaëroben Bakterien verursachten eine prinzipielle Trennung der Untersuchungsmethodik beider Arten. Es lag dabei das Hauptgewicht immer auf einem Unterschied der Sauerstofftension in dem für die aëroben und anaëroben Bakterien verwendeten Nährboden, welcher sich in der ersten Periode der Anaërobenforschung einerseits in der vorwiegenden Verwendung der „hohen Schicht" bei festen Nährböden, andererseits in der starken Betonung der physikalischen Hilfsmittel zur Verhütung des Sauerstoffeinflusses bei flüssigen Nährböden äußerte. Die Züchtung geschah in flüssigen Nährböden in Wasserstoff oder Stickstoffatmosphäre oder unter vermindertem Sauerstoffdruck, unter Paraffin und durch Verwendung von Organstückchen zur Reduktion im Nährboden.

Zahlreiche Untersucher konnten inzwischen bestätigen, daß trotz des ausgezeichneten Anaërobenwachstums in den meisten zu Züchtungszwecken verwendeten Nährböden — es soll hier nur von der Züchtung in hoher Schicht bei festen und flüssigen Nährböden gesprochen werden — von tatsächlich anaëroben Verhältnissen überhaupt keine Rede ist [A. Meyer (19), Kürsteiner (17) usw.] ein Zustand, welcher durch eine ganz einfache Versuchsanordnung, durch Verwendung des Methylenblaues als Indikator, nachweisbar ist. Bekanntlich läßt sich Methylenblau durch Entfernung des Sauerstoffes, wie es in den Nährböden schon Sanfelice (20), A. Meyer (19), und Stühler (22) gezeigt haben, in seine Leukobase überführen. Dies geschieht am einfachsten unter gleichzeitiger Reproduktion der bei der Anaërobenzüchtung herrschenden Verhältnisse durch das Kochen einer Traubenzuckerpeptonbouillon im Wasserbad, welche durch Methylenblau durchsichtig blau gefärbt ist. Nach kurzem Kochen verschwindet nach und nach vollständig die Blaufärbung. Sie tritt aber nach der Abkühlung in kurzer Zeit an der oberen Bouillonschicht beginnend wieder auf, bis sie nach längerem oder kürzerem Zeitintervall, welches von der Höhe der Bouillonschicht abhängig ist, wieder ihre Originalfarbe annimmt. Man kann dabei zeigen, daß der die Leukobase enthaltende Nährboden, wenn dieser mit Agar überschichtet ist [Kadisch (10)], viel später die blaue Farbe wiederbekommt, als wenn er mit einer gleich breiten Paraffinschicht überschichtet war, besonders wenn dabei flüssiges Paraffin verwendet wurde. Es ist klar, daß bei all diesen Versuchen, welche den Bedingungen der anaëroben Züchtung entsprechen, nie tatsächliche anaërobe Verhältnisse bestehen. Wenn trotzdem die Anaëroben bei diesen Bedingungen wachsen, muß man im allgemeinen diese Bedingungen für die Wachstumsintensität des jeweiligen Stammes in dem verwendeten Nährboden als

die praktisch optimale bezeichnen, da auch bei Verhinderung des Luftzutrittes in den meisten Fällen keine Aenderung der Wachstumsintensität auftritt. So können wir, wie die Tabelle (Tabelle I) zeigt, in

Tabelle I.

Züchtung in Traubenzucker-Kalbsbouillon-Gelatine bei 37°.

	B. botulin. Zeißler Stamm 14		B. putrificus verr. Zeißler Stamm 19	
nach Stunden	24	48	24	48
aërob	++	+++	++	+++
unter Paraffin	+++	+++	+++	+++
im Vakuum	+++	+++	+++	+++

einer Kultur eines Anaëroben in Traubenzucker-Kalbsbouillongelatine (s. unten) trotz der Bebrütung im Anaëroben-Exsikkator unter Vakuum-Pyrogallol, im allgemeinen kein besseres — höchstens ein schnelleres — Wachstum erreichen, als bei der gewöhnlichen Züchtung in hoher Schicht, wobei in dem Nährboden mit Methylenblau oder auch anderen Indikatoren Sauerstoff immer nachweisbar ist. So muß man auf den Gedanken kommen, daß bei den obligaten Anaëroben die größte Bedeutung nicht dem tatsächlichen Fehlen des freien Sauerstoffs im Nährboden, sondern einer anderen Sauerstofftension zukommt, als die für das Wachstum der anderen Bakterien am besten geeignete. Beijerinck (1) gibt auf Grund dieser Anschauung den Anaëroben den Namen der „Mikroaërophilen; ob die Anaëroben dabei tatsächlich Mikroaërophile sind, oder aber nur unter vermindertem Sauerstoffdruck gedeihen können, ist noch nicht entschieden. Aus den bezüglichen Arbeiten kann man kein endgültiges Urteil fällen. Fermi und Bassu (4) äußern von Meyer (19) und Kürsteiner (17) ganz abweichende Meinungen. Die prinzipielle Funktion aller Lebewesen: der Vorgang der Oxydation, gilt auch für die Anaëroben unbeschränkt, nur verschaffen sie sich die zu ihren Lebensfunktionen nötige Energie, nach der Anschauung derjenigen Autoren, die ihre Entwicklung auch bei vollständiger Anaërobiose annehmen, aus dem gebundenen Sauerstoff in Form der intramolekulären Atmung. Demgegenüber vertritt Beijerinck (1) die Anschauung, daß die Anaëroben, die zu ihrem Lebensprozeß nötige Assimilation nur aus dem freien Sauerstoff, jedoch nur unter verminderter Tension, betätigen können. Letztere Anschauung, welche durch die Untersuchungen von Fermi und Bassus (4) gefestigt wird, wird durch den Namen Mikroaërophile am besten charakterisiert. Meine diesbezüglichen Untersuchungen, welche noch nicht vollständig abgeschlossen sind, weisen jedoch auf die Möglichkeit des Wachstums ohne Sauerstoff hin.

Die Anaëroben werden, wie oben erwähnt, in ihrer Wachstumsintensität unter einer bestimmten Sauerstoffspannung nicht verändert, demgegenüber ist eine gewisse Sauerstofftension notwendig, welche eben erlaubt, daß ein bestimmter Stamm in einem Nährboden weiter wachsen kann, so daß wir von einem Sauerstofftensionsmaximum sprechen können. Dieses Tensionsmaximum ist bei verschiedenen Stämmen different [A. Meyer (19) und Kürsteiner (17) usw.], wobei innerhalb

der einzelnen Arten nur so weit eine Aehnlichkeit besteht, daß die Mehrzahl einer bestimmten Art kleinere oder größere Anforderungen bezüglich der Anaërobiose stellt. So wissen wir z. B., daß die Stämme der B. amylobacter auch bei einem relativ größeren Sauerstoffdruck wachsen können.

Wie schon Stühler (22) und Kürsteiner (17) zeigten, ist das auch noch heute oft gebrauchte Paraffin ganz ungeeignet, den Durchtritt des Sauerstoffes in den Nährboden zu verhindern, und Kürsteiner konnte beobachten, daß das nur unter Sauerstoffzutritt wachsende B. phosphoreum auch dann noch weiter leuchtet, wenn seine Kultur mit flüssigem Paraffin überschichtet worden ist. Es soll sogar nach diesem Autor dem Paraffin eine sauerstoffspeichernde Fähigkeit zukommen, da die unter anaëroben Bedingungen bebrüteten Leuchtbakterienkulturen, mit Paraffin überschichtet, ihre Fähigkeit, Licht zu produzieren, viel länger beibehalten, als ohne Paraffin.

Die Sauerstoffdurchlässigkeit des Paraffins ist auch von Grassberger und Schattenfroh (6) hervorgehoben worden, indem sie bei der Benützung des Botkinschen Apparates außer dem Paraffin noch ein Pyrogallol-Kalilaugegemisch verwendeten, um den Eintritt der Luft in den Apparat zu verhindern. Dabei konnten sie im Apparat eine intensive Verdunkelung des an die Paraffinschicht angrenzenden Pyrogallolgemisches konstatieren, als Zeichen der Sauerstoffdurchlässigkeit des Paraffins.

Wenn das Paraffin für die Erreichung einer tatsächlichen Anaërobiose unbrauchbar ist und die Züchtung der Anaëroben auch in hoher Schicht und ohne andere physikalische Hilfsmittel möglich ist, so ergibt sich die Frage nach den Ursachen dafür, daß die Anaëroben unter den gegebenen Bedingungen doch zur Entwicklung gelangen können.

Seitdem Smith (21) durch Verwendung von Organstückchen Anaëroben auch in gewöhnlichen „aëroben“ Nährböden züchten konnte, und von Tizzoni, Cattani und Baquis (24), Kedrowski (11), Kitt (12), Hibler (9), Tarozzi (25), Würker (25) Eiweißkörper zur Anaërobenzüchtung verwendet wurden, hat die nach Tarozzi benannte Methode der Verwendung von Organstückchen die ältere Methode der Ueberschichtung der Kultur mit Paraffin größtenteils verdrängt. Die Ursache dieser Evolution war hauptsächlich nicht darin zu suchen, daß die Züchtung unter Paraffin schlechte Resultate gegeben hätte, sondern in der Einfachheit der neuen Methode. Ich konnte einen Nährboden angeben (14), in welchem die Anaëroben ohne weitere Organzusätze gut wachsen und welcher sich außer in seiner Zusammensetzung, in der Verwendung der hohen Schicht von den zu der Züchtung der aëroben Bakterien verwendeten Nährböden unterscheidet.

Versuche mit Kalbsbouillon.

Die Methode, mit welcher ich mit einer großen Reihe von Stämmen gute Resultate erzielen konnte, erwies sich bei Prüfung einiger neuer, sehr schlecht wachsender Stämme nicht ganz verläßlich, indem ich mit den genannten Stämmen kein regelmäßiges Wachstum erreichen konnte. Es soll aber bemerkt werden, daß bei den genannten Stämmen bei Gebrauch der Stichöse, die ich im allgemeinen als Prüfstein für die Ver-

wendbarkeit eines Nährbodens betrachte, öfters auch in Organbouillon das Wachstum ausbleibt. Aus diesem Grunde nach einer Verbesserung des Nährbodens suchend, kam ich in meinen Versuchen zur Verwendung der Nährbouillon nach Dernby und Allander (2). Dieser Nährboden, der mehr Eiweiß als die gewöhnliche Bouillon enthält, ermöglicht das Wachstum der meisten Anaëroben, wenn man mit einer größeren Menge Kultur die Ueberimpfung ausführt. Bei Verwendung einer mittelgroßen Oese einer 48stünd. Peptontraubenzuckerbouillonkultur konnte ich jedoch kein regelmäßiges Wachstum nachweisen (s. Tabelle II).

Tabelle II.

Bouillon nach Dernby und Allander; pH = 7,5; mit je einer 2 mg-Oese einer 76stündigen Pepton-Traubenzuckerbouillonkultur beimpft.

Stamm	nach 48 Std.	72 Std.
B. phleg. emphys. Stamm Welch	0	0
Para-Rauschbrand Institutsstamm 1	±	+
B. putr. verruc. Zeißler Stamm 1	+	++
B. tetani Stamm Kopenhagen	0	+
B. tetani Stamm Kolle II	0	0
B. tetani Stamm Paris	0	0

Es zeigte sich, daß auch beim Gebrauch von größeren Bakterienmengen — bis zu 1 ccm 48stünd. Peptontraubenzuckerbouillonkultur zu 100 ccm Kalbsbouillon — zur Impfung einzelne Stämme zu finden sind, die sich in der letzteren Einsaat nicht vermehren. Erst beim Gebrauch von noch größeren Bakterienmengen, eventuell mit gleichzeitiger Kombination von Paraffinüberschichtung, konnte ich dann eine Vermehrung nachweisen. Dieser Nährboden wurde zur Tetanustoxindarstellung angegeben, in welchem Falle — wie meine diesbezüglichen Untersuchungen zeigten — die zu der Impfung verwendete Kulturmenge ohne Bedeutung ist; dabei habe ich zu je 100 ccm Kalbsbouillon 1 Oese bis 5 ccm Pepton-Traubenzuckerkultur Kultur zugegeben (s. Tab. III). Da dieser Nährboden bei den gewöhnlichen Labora-

Tabelle III.

Bouillonkölbchen zu je 100 ccm Bouillon nach Dernby und Allander $p_H = 8,0$ mit Paraffin überschichtet, mit Tetanus Stamm Kopenhagen 10 Tage bei 37° bebrütet.

beimpft mit	Dosis letalis für Mäuse von 15—20 g
1 Tropfen (0,05 ccm)	0,0002
0,5 ccm	0,0002
1.0 „	0,0002
5.0 „	0,0002
5,0 „	0,0002

toriumsmethoden, wo meistens kleinere Kulturmengen zur Beimpfung verwendet werden, sich als ungeeignet erwies, untersuchte ich, was für Resultate beim Gebrauch dieser Bouillon statt der gewöhnlichen Rindsbouillon zu der Darstellung der 10proz. Pepton-Traubenzuckerbouillon zu erzielen sind. Wie aus folgender Tabelle ersichtlich

(Tabelle IV), ist die Wachstumsintensität der Anaëroben in diesem Nährboden sehr stark und bei vielen Stämmen übertrifft sie diejenige der in der Organbouillon gezüchteten.

Tabelle IV.

Beimpft mit je einem Tropfen einer 72stündigen Peptontraubenzuckerrindsbouillonkultur nach 48 Stunden bei 37° bebrütet.

Stamm	Tarozzi	Kalbsbouillon	Pepton-Kalbsbouillon	Pepton-Traubz.-Kalbsbouillon	Traubz.-Kalbsbouillon	Pepton-Traubz.-Rindsbouillon
B. phleg. emph. Stamm Welch	++	0	++	+++	++	++
Pararauschbrand, Institut-Stamm 1	+++	+−	++	+++	+	++
B. putr. verruc. Zeißler Stamm 1	+++	+	++	+++	++	+++
B. tetani Stamm Kopenhagen	++	+−	++	+++	+	++
B. tetani Kolle Stamm II	++	0	++	+++	+	++

Bei der Herstellung von Agar mit der erwähnten Bouillon durch Zusatz von Dymethyl-p-phenylendiamin (15) oder Traubenzucker kann man in Schüttel- oder Plattenkulturen ein besseres Wachstum erreichen, als beim Gebrauch eines aus gewöhnlicher Rindsbouillon dargestellten Agars.

Bei Untersuchungen mit anaëroben Nährböden muß man hauptsächlich auf zwei Punkte achten:

1) auf die Verläßlichkeit des Nährbodens, 2) auf die guten Wachstumsresultate.

Nachdem die unter 2) angegebenen Gesichtspunkte bei Verwendung der Pepton-Traubenzucker-Rindsbouillon schon erreicht waren und die Modifikation durch Anwendung der Bouillon von Dernby und Allander nur eine Verbesserung bedeutet, war das Hauptgewicht auf die Verläßlichkeit des Nährbodens zu legen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen gaben gleichzeitig die Antwort auf die früher aufgeworfene Frage, wodurch die Anaëroben unter den gegebenen Bedingungen zur Entwicklung gelangen.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß das Wachstum der Anaëroben in einem bestimmten Nährboden nicht nur vom Nährboden, sondern gleichzeitig von der Menge der zu der Impfung verwendeten Kultur abhängig ist. Wie ich schon gesagt habe, kann man Bouillon nach Dernby und Allander mit gutem Erfolge zur Tetanustoxindarstellung benützen, trotzdem ein großer Teil der Tetanusstämme bei der Beimpfung mit der Stichöse, sogar mit der Oese selbst, in diesem Nährboden nicht aufgeht. Der Grund dafür liegt offensichtlich in der Notwendigkeit, größere Mengen Bouillon- oder Agarkultur zu der Beimpfung zu verwenden.

Zum weiteren Nachweis der Rolle der Bakterienmenge zum Aufgehen eines Stammes sollen folgende Versuche angeführt werden (Tabelle V). Wie wir sehen, bleibt trotz der Beimpfung mit gleich

Tabelle V.
48stündige Traubenzuckerkalbsbouillongelatinekultur von B. botulinus Zeissler Stamm 14 in Traubenzucker-Kalbsbouillon-Gelatine $p_H = 7,6$, überimpft

bebrütet bei	1 Oese		5 ggt.	
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.
25°	0	++	0	+++
37°	++	+++	+++	+++

großen Kulturmengen und auf demselben Nährboden das Wachstum bei 25° zunächst aus und man kann erst nach 48 Std. im Nährboden eine Trübung nachweisen. Ich glaube diesen Umstand damit erklären zu können, daß in dem Nährboden a priori für die Vermehrung der Bakterien eine ungünstige Sauerstofftension herrscht, und bei 25°, welche Temperatur nicht dem für das Wachstum der untersuchten Botulismusstämme optimalen Wärmegrad entspricht, sich die Bazillen nicht so schnell vermehren als etwa bei 37°. Ich möchte auf die Eigenschaft der untersuchten Botulinusbazillen, daß sie nämlich bei 37° schneller wachsen als zwischen 18 und 30°, mit besonderem Nachdruck hinweisen, da in den Hand- und Lehrbüchern das Temperaturoptimum des B. botulinus von 18—30° beschrieben ist [nach Van Ermengem (3) 25—30°, nach Heim (8) und Lehmann-Neumann (18) 18 bis 25°]. Auch Leuchs (27) konnte bei seinem Stamm E bei 37° nur das gleiche Wachstum, wie bei 22° erzielen; meine Stämme wuchsen demgegenüber bei 37° wesentlich besser, als bei 22—25°. Bei der Verwertung der Eigenschaft, daß meine Stämme bei 37° schneller wachsen, ist darauf zu achten, daß ich auch die Botulinusbazillen bei 37° zu bebrüten pflege, wodurch ja auch eine Gewöhnung der Stämme an diese Temperatur möglich wäre. Immerhin konnte ich auch bei den von Zeissler uns liebenswürdigerweise überlassenen Stämmen, die ich erst bei mehrmaliger Passage bei 37° auf das Temperaturoptimum hin untersuchte, ein besseres Wachstum bei letzterer Temperatur auch bei Verwendung von Traubenzuckeragar Stich- oder Schüttelkuren erreichen. Es würde sicher von Interesse sein, das Temperaturoptimum von frisch gezüchteten Stämmen zu untersuchen und eventuell die zur Gewöhnung an eine höhere Temperatur notwendige Zeit zu bestimmen.

Tabelle VI.
Mit einem Tropfen einer 48stündigen Traubenzuckerkalbsbouillongelatinekultur beimpft, Wachstum nach 48 Std. bei 37°

	B. oedematiens Weinberg	B. tetani Stamm Paris
Rindsbouillongelatine	0	0
Kalbsbouillongelatine	+	+
Peptonrindsbouillongelatine	+++	++
Peptonkalbsbouillongelatine	+++	+++
Traubenzuckerrindsbouillongelatine	+	+—
Traubenzuckerkalbsbouillongelatine	++++	++
Peptontraubenzuckerrindsbouillongelatine	+++	++
Peptontraubenzuckerkalbsbouillongelatine	++++	+++
Tarozzi	+++	+
Peptontraubenzuckerkalbsbouillon	+++	+

Wenn wir die Resultate von Tabelle V analysieren, und gleichzeitig den Versuch in der Form ausführen, daß wir Verdünnungen von den zu der Beimpfung verwendeten Botulisstämmen herstellen, von jeder Verdünnung je 2 Röhrchen Kalbsbouillon mit Traubenzuckerzusatz beimpfen und das eine Röhrchen bei 25, das andere bei 37 ° bebrüten, so werden wir eine Verdünnung finden, bei welcher die Stämme nur bei 37 ° zur Entwicklung gelangen. Diese Tatsache und die Eigenschaft der Anaëroben, daß sie in einem bestimmten Nährboden nur bei Verwendung eines bestimmten Quantums Bakterien sich weiter entwickeln können, kann man nur durch den längst bekannten Satz erklären, daß die Anaëroben sich selbst die anaëroben Bedingungen schaffen.

Es wäre im angegebenen Fall die Ursache des ausgebliebenen Wachstums darin zu suchen, daß sich die bei 25 ° verwendeten Botulismusstämme langsamer vermehren als bei höheren Temperaturen, wodurch die anfängliche Sauerstoffarmut des Nährbodens nach dem Aufkochen relativ rasch verschwindet, so daß eine für die Bazillenvermehrung ungünstige Tension entsteht. Demgegenüber vermehren sich die Bazillen bei 37 ° so schnell, daß sie dann bald die nötigen „anaëroben Bedingungen" herstellen können. Bei der Züchtung bei 25 ° in einem für die Anaëroben günstigen Nährboden wie in der Traubenzucker-Kalbsbouillongelatine, muß man den Umstand, daß der Nährboden in den ersten 24 Stunden klar bleibt, so erklären, daß durch die ungünstige Temperatur die eingeimpften Keime sich erst sehr langsam, makroskopisch überhaupt nicht sichtbar, vermehren und bei Erreichung einer bestimmten Keimzahl und damit einer bestimmten Sauerstofftension, sich erst weiter entwickeln.

Bei der Herstellung der „anaëroben Bedingungen" kommen hauptsächlich zwei Momente in Betracht:

1) die Gärungsgase, welche den in dem Nährboden befindlichen Sauerstoff verdrängen und dadurch eine verminderte Sauerstofftension verursachen.

2) die direkte Reduktion durch die Bakterien.

Die nähere Analyse dieser Faktoren überschreitet den Rahmen dieser Ausführungen; ich möchte hier nur kurz auf den letztgenannten Faktor hinweisen. Wenn man eine gut gewachsene Kultur von B. putrificus verrucosus durch Hitze abtötet, nach Zentrifugierung den anaëroben Nährboden von den Bakterien abgießt, die Bakterien mit Kochsalz wäscht und dadurch von den letzten Resten des Nährbodens befreit und nach neuerlicher Zentrifugierung mit Traubenzuckerbouillon überschichtet, so kann man in dieser gewöhnlichen Traubenzuckerbouillon Anaëroben kultivieren. Bei Verwendung von Eiweiß der aëroben Bakterienleiber, mit welchen schon Kedrowski (11) anaërobe Bakterien züchtete, konnte ich gegenüber der Reduktion der vorherigen keinen Unterschied nachweisen.

Man kann den erwähnten Versuch auch in dieser Form ausführen, daß man z. B. eine 48stünd. Kultur von B. putrificus verrucosus in Peptontraubenzuckerbouillon scharf zentrifugiert, bis die obere Flüssigkeit ziemlich klar wird, dekantiert, mit Traubenzuckerbouillon versetzt, nach erfolgter Aufschüttelung zur Entfernung der Reste des hochkonzentrierten Peptons wieder zentrifugiert und diese Prozedur noch 2mal wiederholt. Wird nun zum Schluß das Bakteriensediment vor-

sichtig mit Traubenzuckerbouillon oder gewöhnlicher Bouillon überschichtet, so daß die Bouillon ganz klar bleibt, entsteht schon nach 24stünd. Bebrütung, auch wenn die Bouillonschicht nicht höher ist als 5 cm, eine diffuse Trübung des ganzen Nährbodens. Um eventuelle Diffusionsmöglichkeiten im Nährboden auszuschließen, wird derselbe Versuch mit 0.5 Proz. Karbolzusatz ausgeführt. Auch nach längerer Bebrütung bleibt die Bouillon in diesem Fall klar.

In anschließenden Versuchen der Züchtung mit abgetöteten Bakterien untersuchte ich, wie weit eine Bouillonkultur von Coli- und Flexner-Bakterien, wenn diese mit den homologen Bakteriophagen aufgelöst wurden, zu der Züchtung der Anaëroben verwendbar wäre, wodurch es gelingen würde, einen Nährboden ohne Eiweiß (Bakterien)-Sediment darzustellen. Die diesbezüglichen Versuche ergaben ein negatives Resultat.

Man kann die Förderung des Aufgehens der Keime nicht immer durch Vermehrung der zu der Beimpfung verwendeten Kulturmenge erzielen; notwendiger ist das Vorhandensein eines Nährbodens, welcher bei den für die Anaëroben praktisch in Betracht kommenden Bakterienmengen — ich habe bei meinen Versuchen die Stichöse als Maß genommen — verläßlich die Entwicklung der Keime garantiert.

Versuche mit Gelatine.

Wie ich schon oben ausführte, konnte ich in Kalbsbouillon mit 10 Proz. Witte-Pepton und 2 Proz. Traubenzucker gute Resultate erzielen. Doch erwies sich ein anderer Nährboden bei der Herstellung von höheren Verdünnungen verläßlicher als dieser, so daß ich — trotzdem ich in Peptontraubenzucker-Kalbsbouillon die beste Wachstumsintensität erzielen konnte — aus ökonomischen Gründen meine Versuche auch in anderer Richtung erweiterte. Ausgehend von der Voraussetzung, daß in festen Nährböden die Sauerstofftension etwas geringer ist als in flüssigen, besonders aber davon, daß der Luftsauerstoff schwerer in ersteren eindringen kann, stellte ich Versuche mit Gelatine bei 37° an. Gelatine ist bei dieser Temperatur von dickflüssiger Konsistenz. Sie wurde schon von Harde (7), mit Fleischstückchen versetzt, zur Züchtung der Anaëroben aus Exsudaten bei $37^1/_2{}^0$ verwendet. Ich empfahl, gleichzeitig mit der Peptontraubenzuckerbouillon die Peptontraubenzuckergelatine in hoher Schicht zum Nachweis der Verflüssigung der Anaëroben zu verwenden und mit Tierkohle kombiniert zur Auszüchtung von sehr spärlichen oder sehr empfindlichen Keimen. Es war die Möglichkeit vorhanden, die Bouillon vollständig durch Gelatine zu ersetzen, um so mehr als sich letztere bei 37° — wie sie Zeißler (26) bei Züchtung im Vakuum mit nachfolgender Abkühlung zum Nachweis der Verflüssigung angab — von der Bouillon außer durch ihre etwas dickere Konsistenz sich nicht unterscheidet, und doch durch den Konsistenzunterschied die Möglichkeit eines besseren Wachstums gegeben war.

In einer Peptontraubenzuckergelatine mit 20proz. Gelatine vermehren sich die Anaëroben sehr üppig, besonders wenn man die Bouillon aus Kalbfleisch herstellt.

Da die zu den Peptonnährböden gebrauchte, relativ große Menge Witte-Pepton bei den heutigen so ungünstigen materiellen wissen-

schaftlichen Arbeitsbedingungen den Gebrauch dieses Nährbodens erschwert, untersuchte ich, ob man mit weniger Pepton auskommen könnte, ohne daß dadurch die Verläßlichkeit des Nährbodens bezüglich des Aufgehens der Keime vermindert würde. Ich stellte Versuche mit Kalbsbouillon mit 2proz. Traubenzucker und 20proz. Gelatine an (siehe Tabelle VI). Wie die Tabelle zeigt, besteht ein Unterschied in der Wachstumsintensität bei Verwendung von 10proz. Pepton, jedoch ist das Wachstum auch mit der schon zu der Herstellung der gewöhnlichen Bouillon verwendeten Peptonmenge ziemlich üppig. Demgegenüber konnte ich im allgemeinen in allen Fällen, wo ein Stamm in Peptontraubenzuckergelatine sich vermehrt hat, diesen auch ohne 10proz. Pepton zur Entwicklung bringen. Ich benütze daher die Traubenzuckerkalbsbouillongelatine immer dann, wenn flüssige Nährböden für die Anaërobenzüchtung in Betracht kommen. So bei der Herstellung eines Ausgangsmaterials zu der Beimpfung von größeren Reihenversuchen, zur Beimpfung von Kolben zur Toxindarstellung usw.

Die Bereitung der Bouillon nach Dernby und Allander (2), welche ich zur Darstellung der Gelatine benütze, ist folgende:

„Frisch geschlachtetes feines Kalbfleisch wird in der Hackmaschine zerkleinert. Zu 5 kg Fleisch werden 10 Liter Leitungswasser zugesetzt und die Mischung über Nacht im Eisschrank stehen gelassen. Am nächsten Tage wird die Mischung eine Stunde lang auf 60° erwärmt, worauf filtriert wird. Zum Filtrat wird 1 Proz. Pepton Witte und 0,5 Proz. NaCl zugesetzt. Alsdann wird die Bouillon mit Natriumhydroxyd oder Natriumkarbonat — im allgemeinen braucht man zu 10 Liter etwa 40 g Kristallsoda — neutralisiert und die Alkalität so bestimmt, daß sie etwa $p_H = 8{,}0$ entspricht. Die Bouillon wird 20—30 Minuten gekocht. Hierdurch entsteht eine starke Trübung. Die Alkalität wird nun in folgender Weise genau justiert. Etwa 50 ccm werden herausgenommen, filtriert und abgekühlt. Die Wasserstoffionenkonzentration wird in gewöhnlicher Weise in 10 ccm Bouillon bestimmt unter Benützung von Phenolsulfonaphthalein als Indikator und Sörrensenschen Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeiten. Wenn die Probe nicht $p_H = 8{,}0$ zeigt, setzt man soviel n/10 NaOH oder HCl zu, daß p_H genau 8,0 wird. Eine einfache Rechnung ergibt nun, wieviel NaOH oder HCl zu der ganzen Bouillonmenge zugesetzt werden muß, um die gewünschte Alkalinität zu erhalten.“

Bei meinen Versuchen wurde die Wasserstoffkonzentration mit der Michaelisschen m.-Nitrophenolmethode bestimmt, wobei jedoch, wie später angegeben wird, die Wasserstoffionenkonzentration mit Rücksicht auf die Wachstumsintensität und andere, später in Betracht kommende Momente, nicht auf $p_H = 8{,}0$ eingestellt wurde. Die mit dieser Bouillon bereitete Gelatine besteht aus 20 Proz. Gelatine mit 2 Proz. Traubenzuckerzusatz. Die Einstellung der Reaktion geschieht, wie schon oben angegeben, mit der Michaelisschen Methode vor Einfüllung in die Eprouvetten auf $p_H = 7{,}6$, welcher Wert jedoch bei der nachfolgenden zweimaligen Sterilisation durch je eine Stunde bei 100° öfters etwas zurückgeht, so daß sie eventuell $p_H = 7{,}4$ entspricht. Eine genauere Kontrolle der Wasserstoffionenkonzentration, welche nur durch Bestimmungen der einzelnen schon sterilisierten Eprouvetten möglich wäre, ist bei dem relativ breiten Wachstumsoptimum der Wasserstoffionenkonzentration der Anaëroben nur für spezielle Untersuchungen, zur Toxindarstellung usw. notwendig.

Die Pufferung mit Phosphaten verwende ich nicht, nachdem die Untersuchungen von Dernby und Allander (2) zeigten, daß schon ganz geringe Phosphatmengen das Wachstum der Tetanusbazillen hemmen. Es ist, wie schon erwähnt, die optimale Wasserstoffionen-

konzentration für die Anaëroben relativ so breit, daß eine ganz genaue Einstellung — wenn technische Schwierigkeiten im Wege stehen, wie es bei den Bestimmungen in den einzelnen Eprouvetten der Fall wäre, für die gewöhnlichen Bestimmungen nicht notwendig ist.

Die Gelatine wird vor der Beimpfung — wie alle Anaërobennährböden — im Wasserbad 10—15 Minuten gekocht und nach der Beimpfung sofort bei 37 Grad bebrütet. Die flüssige Konsistenz der Gelatine bei dieser Temperatur bietet einen vollständigen Ersatz für die Bouillon, um so mehr, als ihr flüssiger Charakter auch bei Zimmertemperatur durch längere Zeit bewahrt bleibt.

Bei Herstellung von mikroskopischen Präparaten ist es zur Vermeidung von Niederschlägen zweckmäßig, einen Tropfen des Nährbodens erst mit einem Tropfen Wasser zu verdünnen und erst aus diesem die Ausstriche anzufertigen.

Nach den günstigen Resultaten, welche ich mit der Gelatine als Ersatz für die Bouillon erzielte, war es von Interesse, die Toxinproduktion in Gelatine zu untersuchen. Dabei verwendete ich eine Gelatine, bei welcher p_H genau 8,0 war, indem ich den schon sterilisierten Nährboden mit steriler Lauge einstellte. Zur Kontrolle benützte ich Traubenzucker-Kalbsbouillon von dem gleichen p_H-Punkt. Nach Beimpfung mit einer 2tägigen Tetanuskultur in Pepton-Traubenzuckerbouillon wurden die Kölbchen 10 Tage lang bei 37° bebrütet und weiße Mäuse im Gewichte von 15 g subkutan injiziert (siehe Tabelle VII).

Tabelle VII.

10tägige Kultur von B. tetani Kopenhagen in Kalbsbouillon und Kalbsbouillongelatine $p_H = 8{,}0$ bei 37° bebrütet. Mäuse von 15—20 g subkutan geimpft.

Menge	0,0005	0,0002
Bouillon	**tot nach** 24 **Std.**	**tot nach** 72 **Std.**
Gelatine	„ „ 24 „	„ „ 72 „

Wie die Tabelle zeigt, ist zwischen der Toxinproduktion in Gelatine und Bouillon kein Unterschied zu finden.

Wenn man die praktischen Voraussetzungen für die Möglichkeit der Anaërobenzüchtung in flüssigen Nährböden, zu welchen ich auch die Gelatine rechne, rekapituliert, so kann man sagen, daß jeder Nährboden, welcher für die Anaërobenzüchtung in Betracht kommt, in der Zeit der Beimpfung eine Sauerstofftension besitzen muß, welche die Vermehrung der Bakterien noch ermöglicht. Dieser Sauerstoffdruck wird dann durch die Vermehrung der Bakterien in eine für die weitere Entwicklung günstige Tension umgewandelt.

Durch die Konsistenz der Gelatine im flüssigen Zustande sind die physikalischen Bedingungen des Sauerstofftensionsmaximums für die verschiedenen Anaëroben eher gegeben als in der Bouillon, so daß diese mit gutem Erfolge durch erstere ersetzt werden kann, wobei auch die Rolle der Gelatine als Nährboden in Betracht zu ziehen wäre.

Zusammenfassung.

A. Es ist möglich, durch Verwendung von Kalbsbouillon die Resultate der Anaërobenzüchtung in Pepton-Traubenzuckerbouillon zu vervollkommnen. — B. Bei Verwendung von 20proz. Gelatine, aus einer Kalbsbouillon mit 2proz. Traubenzuckerzusatz hergestellt, kann man die Anaëroben in hoher Schicht ohne weitere Verhinderung des Luftzutrittes bei 37° mit Vorteil kultivieren. Durch einen Zusatz von 10proz. Witte-Pepton zu diesem Nährboden kann man den für die Anaërobenvermehrung günstigsten flüssigen Nährboden darstellen. — C. Die untersuchten Botulismusstämme wuchsen bei 37° viel besser als bei 25°, so daß das in der Literatur angenommene Temperaturoptimum von 25° bei meinen Stämmen wahrscheinlich infolge der Gewöhnung nicht zu recht besteht. — D. Die Toxinproduktion der Tetanusbazillen ist unabhängig von der zur Einsaat verwendeten Bakterienmenge. — E. In Gelatine ist die Tetanustoxinproduktion entsprechend der in Bouillon von gleicher pH. — F. Es gelang nicht, die Anaëroben statt mit Bakterieneiweiß von abgetöteten Aëroben und Anaëroben mit den durch Bakteriophagen aufgelösten Bakterien zu kultivieren.

Literatur.

1) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. S. 827. — 2) Dernby u. Allander, Biochem. Ztschr. Bd. 123. S. 245. — 3) Van Ermengem, Der Botulismus i. Kolle-Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganism. 2. Aufl. 1912. — 4) Fermi u. Bassu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. S. 563 u. Bd. 38. S. 138. — 5) Foth, Ztschr. f. Infektionskrankh. u. Hyg. d. Haustiere. Bd. 7. S. 201. — 6) Grassberger u. Schattenfroh, Arch. f. Hyg. Bd. 37. S. 54. — 7) Harde, Compt. Rend. Acad. Paris. T. 80. p. 661. — 8) Heim, Lehrb. d. Bakt. Stuttgart (Enke) 1918. — 9) Hibler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. S. 603. — 10) Kadisch, Ebenda. Bd. 91. S. 230. — 11) Kedrowsky, Ztschr. f. Hyg. Bd. 20. S. 358. — 12) Kitt, Centralbl. f. Bakt. Bd. 17. S. 168. — 13) Kliegler, Journ. of Bact. Vol. 2. 1917. — 14) Kovács, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. S. 580. — 15) Derselbe, ebenda. Bd. 92. S. 315. — 16) Derselbe, ebenda. Bd. 95. S. 344 u. Wiener med. Wochenschr. 1925. Festschr. Ortner — 17) Kürsteiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. S. 1. — 18) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München (J. F. Lehmann) 1920. — 19) Meyer, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. S. 305. — 20) Sanfelice, Ztschr. f. Hyg. Bd. 14. S. 347. — 21) Smith, Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. S. 502. — 22) Stühler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. S. 299. — 23) Tarozzi, Ebenda. Bd. 38. S. 619. — 24) Tizzoni, Cattani und Baquis, Zieglers Beitr. Bd. 7. S. 596. — 25) Würker, Sitzgsber. d. Med.-phys. Soz. Erlangen. Bd. 41. — 26) Zeißler, Die Technik der Anaërobenzüchtung. (in Kraus-Uhlenhuth, Handb. d. Mikrobiolog. Technik). Berlin-Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1923. — 27) Leuchs, Ztschr. f. Hyg. Bd. 65. S. 55.

Nachdruck verboten.

Ueber eine neue Methode zur Herstellung von destilliertem Wasser auf elektro-osmotischem Wege.

[Aus der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling.]

Von Direktor Dr. **F. Gerlach**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Für die Herstellung von destilliertem Wasser, wie es für technische, pharmazeutische, therapeutische, medizinische und wissenschaftliche Zwecke allgemein benützt wird, bediente man sich bisher ausschließlich der kalorischen Methode, nämlich der Verdampfung von Wasser und Kondensation des Wasserdampfes. Je nach dem Verwendungszweck des Wassers wird diese Kondensation mit mehr oder weniger Kautelen vorgenommen und es werden dazu Kühler aus Kupfer, Zinn oder Silber verwendet. Die Verdampfung selbst geschieht in Blasen aus denselben Metallen; als Heizstoffe dienen Holz, Kohle, Gas, in selteneren Fällen die Heizkraft des elektrischen Stromes. In vielen Fällen, beispielsweise dort, wo es sich um ganz subtile Verwendungszwecke des destillierten Wassers handelt, wie z. B. für die Herstellung gewisser kolloidaler Metallösungen, ist es sogar nötig, das Wasser unter besonderen Vorsichtsmaßregeln 2mal zu destillieren.

Seit einiger Zeit wird ein neues Verfahren geübt, das ohne Verdampfung des Wassers ein dem destillierten Wasser mindestens gleichwertiges Produkt herzustellen vermag, ja das in einer Operation ein Produkt liefert, welches dem 2mal destillierten Wasser gleichkommt. Es ist dies jenes Verfahren, das der Elektro-Osmose A.-G. durch eine Reihe von Patenten (DRP. 383666, 394360, 395752, Oe. P. 100718 u. a. m.) geschützt ist und für das sie eine sehr zweckmäßig arbeitende Apparatur herausgebracht hat.

Die staatliche Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling hat sich nach Vornahme ausgedehnter Versuche bei der Elektro-Osmose A.-G. in Wien vor längerer Zeit zum Ankauf einer solchen elektro-osmotischen Wasserreinigungs-Apparatur entschlossen und es seien in folgendem unter kurzer Erläuterung des Wesens dieses Prozesses die Erfahrungen und Vorteile desselben den Fachkollegen mitgeteilt.

Alle im Wasser gelösten Salze sind nach der von Sven Arrhenius aufgestellten Theorie elektrolytisch gespalten, d. h. sie sind in Form elektrisch geladener Atome, sogenannter Ionen, im Wasser enthalten. Jedes Salz besteht aus einem elektro-positiv geladenen Ion, dem Kation und einem elektro-negativen Ion, dem Anion. Die Ionen der Metalle und des Wasserstoffes sind Kationen, die Säurerestionen Anionen.

So ist z. B. Kochsalz, NaCl, in wässeriger Lösung dissoziiert nach folgender Gleichung:

$$\underset{\text{Kochsalz}}{NaCl} \rightleftarrows \underset{\text{Na-Ion}}{\overset{+}{Na}} + \underset{\text{Cl-Ion}}{\overset{-}{Cl}}$$

Analog verhalten sich alle übrigen Salze.

Läßt man auf eine salzhaltige Lösung den elektrischen Gleichstrom einwirken, also unterwirft man sie der Elektrolyse, so wandern die positiv geladenen Kationen an die negative Elektrode (Kathode) und die negativ geladenen Anionen an die positive Elektrode (Anode), werden dort entladen und scheiden sich dort ab, also beispielsweise im Falle des Kochsalzes das Na an der Anode, das Cl an der Kathode. Genau so verhalten sich alle normalerweise in gewöhnlichem Wasser (Quell-, Fluß-, Leitungswasser) enthaltenen Salze, wie Gips ($CaSO_4$), die Karbonate des Kalziums ($CaCO_3$), des Magnesiums ($MgCO_3$), Bittersalz ($MgSO_4$) u. a. m.

Bei diesem elektrolytischen Prozeß würden die Bestandteile aber im Wasser verbleiben, wenn sie nicht auf geeignete Weise entfernt würden. Dies geschieht nach dem Verfahren der Elektro-Osmose A.-G. dadurch, daß die Elektroden von dem zu reinigenden Wasser durch poröse Scheidewände, Diaphragmen, getrennt werden. Diese Diaphragmen haben die Eigenschaft unter dem Einfluß des elektrischen Stromes wohl die Ionen hindurch zu den Elektroden wandern zu lassen, dagegen für das Wasser praktisch undurchlässig zu sein. Die beschriebene Anordnung führt zu der Bildung eines Dreizellenapparates nach Fig. 1.

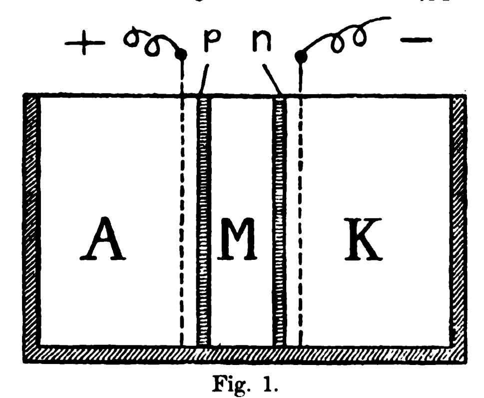


Fig. 1.

Durch die beiden Diaphragmen werden 2 Seitenräume *A* und *K* und Mittelraum *M* gebildet. Die Seitenräume enthalten die Elektroden, der Mittelraum das zu reinigende Wasser. Die Seitenräume sind ebenfalls mit Wasser gefüllt und werden fortwährend langsam gespült. Aus *M* wandern die Ionen nach *A* und *K*, werden infolge der Spülung dauernd weggeführt, während das Wasser im Mittelraum immer Ionen-, also salzärmer wird, bis es endlich vollkommen entsalzt ist.

Es ist ohne weiteres einzusehen, daß man jeden beliebigen Entsalzungsgrad erreichen kann, je nachdem man die Dauer der Stromeinwirkung wählt. In dem skizzierten Dreizellenapparat ist es natürlich nicht möglich, kontinuierlich zu arbeiten. Für das kontinuierliche Arbeiten sind zehn solche Dreizellen-Apparate filterpressenartig (siehe Fig. 2) hintereinander angeordnet. Das Wasser, das der Entsalzung unterworfen werden soll, gelangt in den Mittelraum des 1. Dreizellen-

Apparates, wird dort durch einfache, automatisch wirkende Heber in den 2. Mittelraum gebracht u. s. f., bis es endlich völlig gereinigt den geleerten Mittelraum verläßt.

Das elektro-osmotische Entsalzungsverfahren entspricht prinzipiell also der Destillation, jedoch mit dem Unterschied, daß bei dieser das reine Wasser abdestilliert und die Salze zurückbleiben, während hier die Salze abwandern und das reine Wasser zurückbleibt.

Abgesehen von der Qualität des erzeugten Wassers, bedeutet die Verwendung des elektro-osmotischen Apparates wesentliche Ersparnisse im Betrieb. Für Wasser von ca. 10° d. H. stellt sich der Preis für den hl in Wien auf etwa 40—50 Groschen gegenüber der Destillation mit

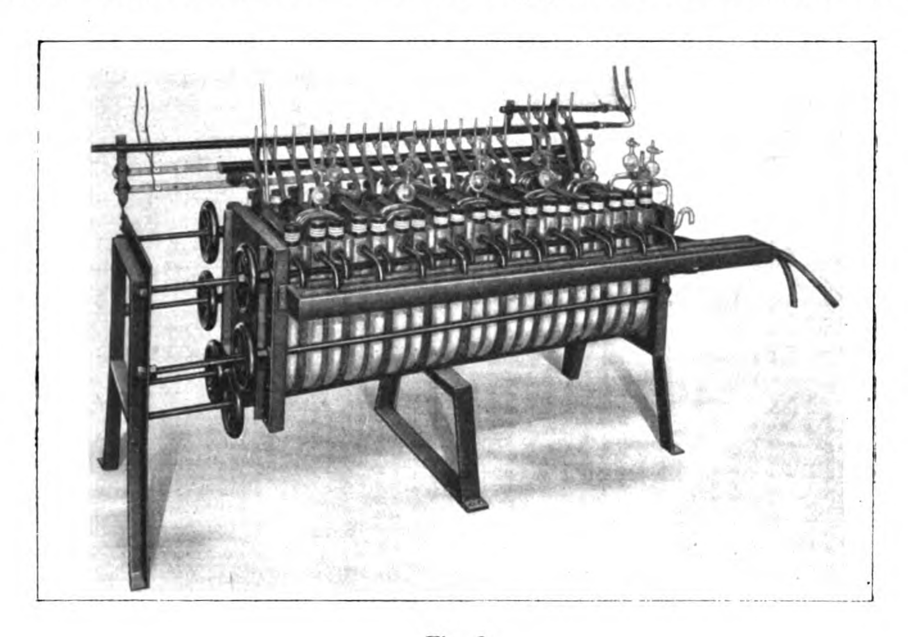


Fig. 2.

Kohle von ca. 1,7 Schilling oder mit Gas an 5 Schilling. Durch Elektro-Osmose wird also der Gestehungspreis auf $^{1}/_{4}$ bis $^{1}/_{10}$ der bisherigen Kosten gedrückt. Dazu kommt, daß bei kleinem Raumbedarf große Leistungen erzielt werden und daß der Apparat so gut wie ohne Aufsicht, also auch bei Nacht, betrieben werden kann.

Für den Betrieb des Apparates ist Gleichstrom von 110—220 Volt nötig. Der im Institut im Dienst stehende Apparat ist ein sogenannter Laboratoriumstyp, dessen Leistungsfähigkeit für Wiener Hochquellenleitungswasser mit ca. 9° d. H. pro Std. 6 Liter bei Verwendung von 220 Volt Gleichstrom ist. Für die Herstellung von 100 Liter dest. Wassers von ca. 10° d. H. sind etwa 2 Kwst. nötig. Bei Wässern von besonderer Härte steigt der Stromverbrauch. In Mödling wird Wasser von 21,9° d. H. temporärer Härte und 7,5° bleibender Härte entsalzt.

Die Analyse des Wassers ist:

Eindampfrückstand	336	mg	per	Liter
SiO_2	12,4	"	"	"
CaO	155	"	"	"
MgO	46	"	"	"
$HgSO_4$	33,6	"	"	"
Cl	2,7	"	"	"

Es handelt sich also um ein besonders hartes Wasser. Trotzdem funktioniert der Apparat vollkommen zufriedenstellend und liefert ein „destilliertes Wasser“ vorzüglicher Qualität.

Selbstredend ist auch bei diesem Apparate von Zeit zu Zeit eine Reinigung nötig; eine solche empfiehlt sich etwa nach Erzeugung von je 1000 Liter und ist schnell und leicht durchführbar.

Alles in allem stellt der elektro-osmotische Wasserreinigungs-Apparat eine wertvolle und nützliche Bereicherung der bisherigen Methoden zur Herstellung von destilliertem Wasser dar und sei der Beachtung bestens empfohlen.

Inhalt.

Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden, nebst Bemerkungen über Tabaniden, Simuliden und Chironomiden, S. 97.

Geistfeld, Elisabeth, Beitrag zur Spirochätenforschung. Beobachtungen an Mundspirochäten. Mit 30 Abbildungen im Text, S. 42.

Gerlach, F., Ueber eine neue Methode zur Herstellung von destilliertem Wasser auf elektro-osmotischem Wege. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 125.

Herrmann, Otto, Die Vererbung der erworbenen Immunität, S. 81.

Jelin, W., Zur Frage über den Mechanismus der natürlichen Immunität. III. Mitteilung, S. 86.

Kersten, H. E., Zur Arbeit von H. Kapeller-Marburg „Ueber einen gelungenen Nachweis von Paratyphus B-Bazillen im Leitungswasser“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. S. 8), S. 7.

Klingenstein, Rudolf, Ueber die Konstanz des Hämolysierungsvermögens bei Coli-Bazillen, S. 94.

Klopstock, Felix, Ueber die Komplementwirkung des Blutplasma, S. 100.

Kovács, Nikolaus, Untersuchungen über die Technik der Anaërobenzüchtung. II. Mitteilung, S. 114.

Kühnhold, Grete, Abnorme Formen von Malaria tertiana-Parasiten bei Impfmalaria. Mit 1 Abbildung im Text, S. 113.

Nikanorow, S. M., Die Rolle der Kamele in der Epidemiologie der Astrachaner Pest. Mit 1 Kurve im Text, S. 24.

Pesch, Karl L., Meningitis durch Bacterium enteritidis (Gärtner), S. 22.

Rudolf, Johann, Beitrag zur Morphologie und Biologie des Galt-Streptokokkus, des Erregers der Mastitis katarrhalis-streptococcica des Rindes, S. 47.

Ruge, Heinrich, Eine Nahrungsmittelvergiftung durch Sauerkraut, S. 18.

Sabolotny, S. S., Zur Frage nach der Empfänglichkeit der weißen Mäuse für Rotz und ihrer diagnostischen Geltung, S. 37.

Sakai, Kikuo, Ueber eine Variationserscheinung bei einem Stamme der Paratyphus B-Gruppe, welcher bei einer Nahrungsmittelvergiftung nachgewiesen wurde, S. 9.

Schumacher, Josef, Zur Chemie der Desinfektion und über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung. Zugleich ein Beitrag zur Vitalfärbung. Mit 2 Tafeln, S. 67.

—, Zur Gramschen Färbung. Hat das der Grampositivität zugrunde liegende Lipoproteid der Hefezelle seinen Sitz in der Zellmembran oder im Protoplasma? Mit 1 Tafel, S. 104.

Stolygvo, Nik., Zur Frage der Differenzierung der Streptokokken, S 1.

Tada, S., Untersuchungen über das Vorkommen von Diphtheriebazillen in Vulva und Vagina von Gebärenden und Wöchnerinnen, S. 20.

Takayanagi, Giichi, Ueber die agglutinatorische Beziehung der Hühnertyphusbazillen gegenüber Menschentyphusbazillen, S. 61.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5401

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 98. Heft 3/4.

Ausgegeben am 1. April 1926.

Nachdruck verboten.

Ueber einen neuen Paratyphusstamm (Sasaki-Stamm).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von Dr. T. Hayashi.

Neuerdings machten viele Forscher darauf aufmerksam, daß bei typhösen Erkrankungen nicht Typhus-, Paratyphus B- oder Paratyphus A-Bazillen, sondern andere, davon abweichende Bakterien nachweisbar sind. Darunter ist hier besonders hervorzuheben, daß während des letzten Weltkrieges bei typhösen, septikämischen, sogar dysenterischen Kranken eine Art von Bakterien nachgewiesen wurde, welche zwischen Paratyphus B Schottmüller und Hogcholera (Suipestifer, Voldagsen, Glässer) steht. Neukirch fand zuerst Bakterien im Blute, bisweilen im Kote aus einer ruhrähnlichen, doch aber auch wieder davon abweichenden fieberhaften Erkrankung, welche beim deutschen Roten Kreuz in der Türkei 1915 epidemisch auftrat. Daraufhin konnte er dieselben Bakterien bei Fieberkranken in Konstantinopel nachweisen.

Diese Bakterien wurden von ihm B. Ersindjan genannt und genau kulturell und serologisch untersucht. Sie waren kulturell von Paratyphus B-Bazillen nicht zu unterscheiden, aber serologisch von ihnen ganz verschieden. Dagegen konnten sie von Hogcholera-Bazillen nicht unterschieden werden, weil sie in Glässer-Voldagsen-Seren ebenso stark wie die letzteren agglutinierten. Daraufhin fand er ähnliche Bakterien im Blute, welches im späteren Stadium der Erkrankung entnommen war, und ferner in den Organen von Kranken, welche an dieser Erkrankung gestorben waren. Diese Stämme waren dagegen im Paratyphus B-Serum gut agglutinabel. Er war der Ansicht, daß die letzteren Stämme von den ersteren Stämmen abstammen könnten. Im nächsten Jahre fanden Weil und Saxal in Wolhynien, daraufhin Weil allein in Albanien, bei einer typhösen septikämischen Erkrankung im Blute und Harn Mikroben, die denen von Neukirch ähnlich waren. Diese beiden agglutinierten in Seren von Suipestifer Voldagsen. Doch reagierten erstere in Paratyphus B-Seren sehr stark, letztere dagegen nicht. Im Jahre 1917 konnten Kaunitz und Trawinski Bakterien, welche von ihnen „Minkin“ genannt wurden, aus dem Blut eines Fieberkranken isolieren. Sie waren serologisch von Suipestifer nicht unterscheidbar. Nach ihrer Angabe sollte Krankenserum, in dem die Mikroben nachgewiesen waren, nicht nur Paratyphus B, A, Typhus, sondern auch homologe Bakterien nicht agglutinieren können. Nach englischen Autoren fand Hirschfeld 1916 bei Fieberkranken in Serbien im Blute eine Bakterienart, welche in Paratyphusseris nicht agglutinierte, obwohl sie kulturell dem Paratyphus B ähnlich war.

Dieser Stamm war imstande, bei Kaninchen ein spezifisch wirkendes Serum zu erzeugen, welches nur den homologen Stamm bis zum Titer

agglutinierte. Infolgedessen nannte er diesen Stamm Paratyphus C. Er konnte dabei einen Stamm nachweisen, welcher im Paratyphus B-Serum sehr stark agglutiniert. Dieser Stamm soll später nicht mehr im Paratyphusserum, sondern nur noch im Paratyphus C-Serum agglutinabel geworden sein. Später wurde dieser Stamm von Ten Brock als mit Hogcholerabazillen identisch festgestellt. Im nächsten Jahre wurden ebenfalls paratyphusähnliche Bazillen einerseits von Mac Adam in Bagdad, anderseits von Mackie und Brown in Mesopotamien im Blute von Fieberkranken nachgewiesen. Sie waren in Typhus-, Paratyphus B-, A- oder in Gärtner-Seris inagglutinabel. Ihre Sera agglutinierten die homologen Bakterien bis zum Titer und weiter nur Paratyphus B sowie Aertryck ganz schwach. Ferner fanden Andrewes und Neave bei Fieberkranken, und zwar sowohl im Blut als auch im Harn, Paratyphus B-ähnliche Bakterien. Die beiden wurden von ihnen als Paratyphus C von Hirschfeld angesehen. Doch wurde der Stamm aus Blut als derjenige, welcher keine Verwandtschaft mit Paratyphus-Bazillen besitzt, und der Stamm aus dem Urin als derjenige, welcher zu Paratyphus B-Bazillen starke Beziehung hat, festgestellt. Ferner wurde beobachtet, daß der Blutstamm sowohl mit Glässer-Bazillen, als auch mit Hogcholerabazillen sehr nahe verwandt ist. Dagegen soll der Urinstamm nur mit den Glässer-Bazillen verwandt gewesen sein. Ferner konnten sie feststellen, daß sich der Blutstamm während der Umzüchtung allmählich so verwandelt, daß er im Paratyphus B-Serum immer stärker agglutinabel wird.

In Japan wurde ein Stamm von Paratyphusbazillen bei einem typhösen Kranken aus dem Blute schon 1911 von Maruyama in Formosa nachgewiesen, welcher in den Seris von Paratyphus B-, A- und Gärtner-Bazillen nicht agglutiniert. Er wurde aber im Serum von Hogcholerabazillen ebenso stark wie der homologe agglutiniert. Der Stamm von Ishiwara, welcher ebenfalls aus Harn und Kot von typhös erkrankten Menschen isoliert worden war, scheint mit dem Stamme von Maruyama identisch zu sein, obwohl er nicht mit dem Serum von Hogcholera geprüft wurde. Vergleicht man obige Beobachtungen, so scheint uns die Annahme zutreffend, daß man ein und dieselbe Art Bakterien vor sich hat, welche einerseits zu den Bakterien-Gruppen B suipestifer Glässer, Voldagsen oder Hogcholera sehr nahe Beziehung hat, anderseits mit Paratyphus B ebenfalls nahe verwandt ist. Doch scheint die letztere Beziehung je nach dem Stamme nicht konstant zu sein, so daß von gewissen Autoren Stämme beobachtet wurden, welche in Paratyphus B-Seris nicht reagierten. Dagegen wurden von anderen Autoren andere Stämme, welche auf die Paratyphus B-Sera stark reagieren konnten, gefunden. Dabei wurde in vielen Fällen beobachtet, daß ersterer Stamm in den letzteren umgewandelt werden kann. An dieser Stelle möchten wir unseren Fall einfügen. Es war folgender:

Der Kranke, ein Schüler, 19 Jahre alt, fühlte am 3. 6. 1922 Frösteln, allgemeine Mattigkeit, mit dumpfem Schmerz am Kniegelenk. Appetit herabgesetzt, Stuhlgang verstopft. Er wurde am 5. 6. ins Krankenhaus des Roten Kreuzes in Morioka aufgenommen. Objektiver Befund: Zunge war dick belegt. An der Brust und dem Rücken waren Roseola deutlich zu bemerken. Milz etwas fühlbar. Ileocöcalgurren wahrnehmbar. Körpertemperatur einige Tage nach der Aufnahme 39—39,5° C. Das Fieber ging bald auf 38,5° herunter und blieb eine ganze Zeit zwischen 38—37° remittierend. Nach 20 Tagen war Patient

ganz fieberfrei. Die Widalsche Reaktion gegen Typhus, Paratyphus A und B war immer negativ, ebenso die Diazoreaktion. Kot wurde bakteriologisch nicht untersucht. Im Blute wurde eine Bakterienart rein nachgewiesen. Dieser Stamm wurde uns zur bakteriologischen Untersuchung zugeschickt.

Die Bazillen wurden zuerst genau morphologisch und kulturell untersucht. Es waren gramnegative Stäbchen, welche peritrich begeißelt sind, lebhaft beweglich waren und auf Schrägagar einen grauweißlichen Belag wie Paratyphus bilden. Sie wachsen in Bouillon sehr gut, doch war dabei keine Indolreaktion nachzuweisen. Milch gerann nicht, war aber nach 15 Tagen deutlich peptonisiert. Lackmusmolke wurde von ihnen zuerst gerötet. Diese Verfärbung schlug nach 3 Wochen wieder ins Blaue um, Traubenzucker wurde vergoren, Neutralrot reduziert, Gelatine aber nicht verflüssigt. Sie wurden ferner im Barsiekowschen Nährmedium gezüchtet. Lackmus-Nutrose-Dextrose wurde nach 24 Std. gerötet und war nach 2 Tagen unter Gasbildung geronnen. Lackmus-Mannit wurde nach 2 Tagen mäßig gerötet. 2 Wochen darauf war sie geronnen. Gas entwickelte sich nicht. Nach den obigen Resultaten kann man wohl annehmen, daß man Paratyphus B-Bazillen vor sich hat.

Ferner wurden sie agglutinatorisch untersucht. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene repräsentierende Sera gebraucht, womit man bei uns im Institut Bakterien aus der Gruppe Typhus, Paratyphus, Mäusetyphus, Gärtner zu bestimmen gewöhnt ist. Es handelte sich im ganzen um 11, wovon das eine Typhus, 2 die 2 Typen Paratyphus B, noch 2 andere die 2 Typen Mäusetyphus; 2 Typen Paratyphus A; weitere 2 die 2 Typen Gärtner; und die letzten die 2 Typen Hogcholera waren. In Typhus-, Paratyphus A-, und zwar in einem Typhus PA 2, und Gärtner-Sera agglutinierten sie nicht. Im Serum vom anderen Paratyphus A-Typus, PA 1 wurden sie schwach beeinflußt. Obwohl sie in Paratyphus B-Seris, und zwar in einem Typhus PB 1 sehr stark, fast bis zum Titer, agglutiniert werden, kann man sie doch nicht als Paratyphus B betrachten, weil sie im anderen Typus PB 37 fast nicht agglutiniert wurden. Ebenso war das Verhalten mit den Mäusetyphusseren. Sie wurden nämlich in einem Typus, Ms 2, fast bis zum Titer, aber im andern Typus, nämlich Ms 34, nur ganz schwach agglutiniert, so daß sie nicht als Mäusetyphusbazillen bestimmt werden können. Ebenfalls kann man sie, obwohl sie in einem Hogcholerabazillenserum bis zum Titer beeinflußt wurden, doch nicht als Hogcholerabazillen betrachten, weil sie in dem anderen Hogcholeraserum viel schwächer als zum Titer agglutiniert wurden (Tab. I):

Tabelle I.

Bakterien	Immunsera										
	1552 Ty 39	828 PA 2	814 PA 1	706 Pb 1	505 Pb 37	435 Ms 2	1280 Ms 34	1350 E. G. 3	1354 E. G. 15	1235 Ms 56	1718 Cholera suis
	Titer										
	20 000	5000	20 000	5000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
Sasaki	100	50 –	500	2000	100	5000	500	50 –	50 –	500	10 000 ±

Die Bakterienstämme, in deren Seren unsere Bazillen oben agglutinatorisch untersucht waren, wurden in den Seris, welche mit unseren Bazillen hergestellt waren, ebenfalls agglutinatorisch untersucht. Dabei ergab sich, daß ein Typus Paratyphus B, PB 1, 2 Typen Mäusetyphus, Ms 2 und Ms 34, ein Stamm Hogcholera darin sehr stark bis zum Titer agglutinierten. Dazu wurden 1 Typus Paratyphus A-Bazillen, PA 1, und noch ein anderer von Paratyphus B-Bazillen, PB 37, auch ziemlich stark, Typhusbazillen jedoch etwas schwächer beeinflußt. Der andere Typus Paratyphus-A-Bazillen, PA 2, und Gärtner-Bazillen wurden gar nicht beeinflußt (Tab. II). Nach diesen Ergebnissen

Tabelle II.

Bakterien	Immunsera 2070 Sasaki	Bakterien	Immunsera 2070 Sasaki
	Titer 20 000		Titer 20 000
Pb 1	20 000	Typhus	1000
Pb 37	5 000	PA 1	5000
Ms 2	20 000	PA 2	50 –
Ms 34	10 000	E. G. 3	50 –
Cholera suis	10 000	E. G. 15	50 –

scheinen sie einerseits den Mäusetyphusbazillen so nahe verwandt zu sein, daß man sie mit diesen identifizieren möchte. Die 2 anderen Bakterien, nämlich Paratyphus B, PB 1, und Hogcholerabazillen wurden auch bis zum Titer agglutiniert, so daß man nicht genau bestimmen kann, ob sie mit dem Mäusetyphus- oder Hogcholera- oder Paratyphus B-Bazillen identisch sind. Um die Identifizierung unserer Bakterien weiter festzustellen, wurden noch andere Versuche ausgeführt: Aoki und Konno konnten während der Beobachtung der Beziehungen zwischen der Haupt- und Mitagglutination feststellen, daß man die Identität einer Bakterienart mit einer anderen dadurch bestimmen kann, daß bei jeder Vorbehandlung der immer zunehmende Agglutinationstiter der ersteren Bakterien mit dem der anderen Bakterien, welche in demselben Serum mitagglutinieren, verglichen wird. Dabei wurde dieser Vergleich durch einen Bruch ausgedrückt, dessen Nenner der Titer der Hauptagglutination, d. h. der bekannten Bakterien, und dessen Zähler der der Mitagglutination, d. h. der zu bestimmenden Bakterien, darstellt. Wenn dabei die beiden Bakterien identisch sind, so bleibt dieser Wert des Bruches während der ganzen Immunisierung immer $^1/_1$ oder fast so groß wie $^1/_1$. Falls aber diese beiden Arten nicht identisch sind, so zeigt sich der Wert dieses Bruches gewöhnlich kleiner als $^1/_1$. Nach dieser Angabe wurden mit unseren Bakterien Kaninchen mit verschiedenen, immer steigenden Dosen mehrere Male immunisiert. Zuerst wurde den Kaninchen eine Dose von $^1/_5$ Agarkultur und nach 1 Woche eine solche von $^1/_2$ Ag eingespritzt. Die Dosis wurde während der Vorbehandlungen gesteigert. Bei der 10. Vorbehandlung wurden schließlich 8 Agar eingespritzt. Vor jeder Einspritzung wurde der Ohrvene eine Blutprobe entnommen. Mit diesem Serum wurden immer sowohl homologe als auch heterologe Bakterien agglutiniert, welche bei obigen Untersuchungen als am nächsten verwandt festgestellt worden waren (Tab. III). Es waren Paratyphus B-, Mäusetyphus- und Hogcholera-

Tabelle III.

Beziehung zwischen der Haupt- u. Mitagglutiuation	Mal der Einspritzung									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
$\frac{\text{Pb 1}}{\text{Sasaki}}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
$\frac{\text{Pb 37}}{\text{Sasaki}}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{7}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$
$\frac{\text{Ms 2}}{\text{Sasaki}}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$
$\frac{\text{Ms 34}}{\text{Sasaki}}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$
$\frac{\text{Cholera suis}}{\text{Sasaki}}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$

bazillen. Bei einem Typus von Paratyphus B-Bazillen, PB 1, war der Agglutinationstiter während der ganzen Immunisierung ebenso stark wie bei den homologen Bakterien, so daß man annehmen dürfte, daß unsere Bakterien mit Paratyphus B-Bazillen identisch sind. Doch zeigte der andere Stamm der Paratyphus B-Bazillen, PB 37, welcher den anderen Typus von P. B darstellt, ein ganz anderes Verhalten, so daß der Wert des Bruches während der Immunisierung immer viel kleiner als $^1/_1$ wurde. Infolgedessen kann man auch nicht annehmen, daß unsere Bakterien mit den Paratyphus B-Bazillen identisch sind. Ein Stamm Ms 2, welcher einen Typus von Mäusetyphus-Bazillen darstellt, zeigt den gleichen starken Agglutinationstiter wie die homologen Bakterien, so daß der Wert des Bruches während der ganzen Immunisierung immer entweder $^1/_1$ oder fast so groß war.

Nach diesen Ergebnissen konnte auch ich unsere Bakterien nicht als mit Mäusetyphus-Bazillen identisch ansehen, weil der Wert des Bruches bei dem Stamm Ms 34, welcher deren anderen Typus darstellt, im Anfang der Immunisierung immer viel kleiner als $^1/_1$ war. Zuletzt wurden der Hogcholerastamm und der von Cholera suis in den Seris agglutiniert. Der Wert des Bruches war während der Immunisierung immer kleiner als $^1/_1$, so daß man die beiden Bakterien nicht identifizieren kann. Wenn ich auch diese Bakterien mit keinen verwandten Bakterien identifizieren konnte, wie oben auseinandergesetzt, so bin ich doch berechtigt, zu sagen, daß sie einerseits zu Mäusetyphus-Bazillen, anderseits zu Paratyphus-Bazillen und Hogcholera-Bazillen in nahen verwandtschaftlichen Beziehungen stehen.

Zum Schlusse wurden Absorptionsversuche vorgenommen: Zuerst wurde das Paratyphus B-Serum mit unseren Bakterien erschöpft. In diesen absorbierten Seren blieb das spezifische Agglutinin der homologen Bakterien unverändert. Das Serum von unseren Bakterien wurde umgekehrt von Paratyphus B-Bazillen absorbiert. Durch dieses absorbierte Serum konnten unsere Bakterien ebensogut wie vor der Absorption agglutinieren (Tab. IV u. V). Aus diesen Ergebnissen kann man leicht erkennen, daß unsere Bakterien nicht mit Paratyphus B-Bazillen identisch sind. Dann wurde das Serum von Mäusetyphus, und zwar das von einer der 2 Arten, nämlich Ms 2, von unseren Bakterien absorbiert. Dadurch wurde aber das spezifische Agglutinin nicht weg-

Tabelle IV.

Bakterien	Immunsera									
	515 Pb 1	515 Pb 1	1843 Pb 37	1843 Pb 37	437 Ms 2	437 Ms 2	1280 Ms 34	1280 Ms 34	1718 Chol. suis	1718 Chol. suis
	Absorbiert mit									
		Sasaki		Sasaki		Sasaki		Sasaki		Sasaki
Sasaki	2000	100—	500	100	5 000	100—	500	100—	5 000	100—
Pb 1	5000	5000	10 000	5000	5 000	100—	100—	100—	2 000	100—
Pb 37	5000	1000	10 000	5000	200	100—	100—	100—	100	100—
Ms 2	2000	100—	500	100—	20 000	2000	10 000	100—	2 000	100—
Ms 34	50—	100—	100—	100—	20 000	2000	10 000	100—	100—	100—
Cholera suis	2000	.	100—	100—	.	.	100—	100—	10 000	100—

Tabelle V.

Bakterien	Immunsera					
	2070 Sasaki	2070 Sasaki	2070 Sasaki	2070 Sasaki	2070 Sasaki	2070 Sasaki
	Absorbiert mit					
		Pb 1	Pb 37	Ms 2	Ms 34	Cholera suis
Sasaki	20 000	1000	2000	100—	10 000	5000
Pb 1	20 000	100—	1000	100—	10 000	2000
Pb 37	5 000	100—	100—	100—	2 000	1000
Ms 2	20 000	2000	5000	100—	500	5000
Ms 34	10 000	5000	5000	100—	100—	5000
Cholera suis	10 000	.	.	.	5 000	100—

genommen, sondern blieb fast unverändert. Wenn aber umgekehrt das Serum unserer Bakterien mit Ms 2 erschöpft wurde, so wurde das spezifische Agglutinin gänzlich weggenommen. Wenn ferner derselbe Versuch mit der anderen Art von Mäusetyphusbazillen, nämlich Ms 34, unseren Bakterien gegenüber gemacht wurde, so wurden die spezifischen Rezeptoren gegenseitig nicht gänzlich absorbiert, wie bei Ms 2 (Tab. IV und V). Zuletzt wurde dasselbe Verfahren gegen Hogcholeraserum und Hogcholerabazillen ausgeführt. Es ergab sich, daß, wenn auch das spezifische Agglutinin des Hogcholeraserums von unseren Bakterien erschöpft war, doch umgekehrt das unserer Bakterien von Hogcholerabazillen nicht absorbiert wurde (Tab. IV u. V). Nach allen obigen Absorptionsuntersuchungen kann man wohl annehmen, daß unsere Bazillen von den oben genannten Bakterien ziemlich verschieden sind, aber doch einerseits zu Mäusetyphus-, anderseits zu Hogcholerabazillen nähere Beziehungen haben.

Schlußbetrachtung.

Hier möchte ich zuerst die Untersuchungsergebnisse der verschiedenen Forscher übersichtlich zusammenfassen und sie dann mit unseren vergleichend betrachten. Die Bakterien, welche schon in Europa und Japan gefunden wurden, können weder vom Typhusserum noch vom Paratyphus A-Serum beeinflußt werden.

Was ihre Beeinflußbarkeit durch Paratyphus B-Serum anbelangt, so verhält es sich damit je nach den Stämmen verschieden. So sind

Stämme, welche von Weil in Albanien, von Hirschfeld in Serbien, von Mac Adam in Bagdad, von Mackie und Brown in Mesopotamien und von Andrewes und Neave als Blutstamm nachgewiesen worden waren, in demselben Serum nicht agglutinierbar. Die anderen Stämme, nämlich der Erzindjan-Stamm von Neukirch und der „Minkin"-Stamm von Kaunitz und Trawinski, sind diejenigen, welche darin agglutinabel sind, doch in schwächerem Grade. Dagegen agglutinierten andere Stämme darin sehr stark, welche von Neukirch als Urinstamm nachgewiesen waren. Obwohl sich ihre Agglutinierbarkeit im Paratyphus B-Serum häufig erwies, so war doch das Verhalten gegen das Hogcholeraserum gleichartig. Sie sind in demselben Serum bei allen Autoren nicht nur sehr stark agglutiniert, sondern ihr Serum agglutinierte auch umgekehrt Hogcholerabazillen sehr stark. Ja, Ten Broeck behauptete sogar, daß sie mit Hogcholerabazillen identisch seien. Unsere Bazillen wurden auch sowohl vom Paratyphus B-Serum als auch vom Hogcholeraserum sehr stark beeinflußt. Umgekehrt konnte ihr Serum Paratyphus B-Bazillen und Hogcholera sehr stark agglutinieren, wie es bei den Stämmen Erzindjan, Wolhynien und Urin von Andrewes und Neave der Fall war. Infolgedessen kann man wohl annehmen, daß unsere Bazillen mit den Stämmen, welche oben angegeben wurden, identisch sind. Doch bin ich noch nicht in der Lage, mich dieser Vermutung ohne weiteres anzuschließen, weil das Verhalten der Stämme, welche während des Weltkrieges nachgewiesen waren, Mäusetyphusbazillen gegenüber noch gar nicht berührt worden ist. Unser Stamm ist dagegen mit Mäusetyphusbazillen sehr nahe verwandt, so daß man die beiden schwer unterscheiden kann. Nun fragt es sich, was für einen Stamm von Bakterien wir vor uns haben. Obwohl sie mit einem Typus Paratyphus B-Bazillen gegenseitig sehr stark, fast bis zum Titer beeinflußbar sind, kann man sie doch nicht als mit denselben identisch betrachten, weil sie sich einem anderen Typus derselben gegenüber ganz verschieden verhalten. Gleiches Verhalten konnte man absorptorisch nachweisen. Hogcholerabazillen gegenüber verhalten sie sich fast gleich wie Paratyphus B-Bazillen gegenüber. Sie agglutinierten nämlich in einem Serum von Hogcholerabazillen bis zum Titer, doch in einem anderen Hogcholeraserum, nämlich Ms 56, sehr schwach. Absorptorisch unterscheiden sie sich von Hogcholerabazillen insofern, als Hogcholerabazillen, trotzdem unsere Bakterien spezifisches Agglutinin des Hogcholeraserums absorbieren konnten, umgekehrt doch nicht imstande waren, spezifische Rezeptoren vom Serum unserer Bakterien wegzunehmen. Was Mäusetyphus anbelangt, so stehen sie ihnen am nächsten. Doch kann man sie nicht als mit ihnen identisch betrachten, weil sie in einem Mäusetyphusserum zwar sehr stark bis zum Titer, jedoch in dem anderen Serum nur schwach agglutinieren. Ihr Serum konnte dagegen 2 Typen bis zum Titer agglutinieren. Dieses Ver-

halten konnte ich absorptorisch auch nachweisen. Infolgedessen kann ich nichts anderes annehmen, als daß sie einen Bakterienstamm darstellen, welcher einerseits mit Paratyphus B- und Hogcholerabazillen, anderseits mit Mäusetyphusbazillen sehr nahe verwandt ist. Es scheint aber, als ob Mäusetyphusbazillen ihnen am nächsten stehen.

Literatur.

1) Neukirch, P., Berl. klin. Wochenschr. 1917. S. 360. — 2) Ders., Ztschr. f. Hyg. Bd. 85. 1918. S. 103. — 3) Weil u. Saxl, Wien. klin. Woch. 1917. S. 519. — 4) Weil, Ibid. 1917. S. 1061. — 5) Kaunitz u. Trawinski, Ibid. 1917. S. 1098. — 6) Hirschfeld, Lancet. Vol. 22. 1919. p. 296. — 7) Mac Adam, W., Ibid. 1919. Vol. 2. p. 189. — 8) Macki a. Brown, Journ. of Roy. Arm. Med. Corp. Vol. 33. 1919. p. 154. — 9) Andrewes, F. W., a. Neave, S., Brit. Journ. exper. Pathol. Vol. 2. 1921. p. 157. — 10) Ten Broeck, Journ. of exp. Med. Vol. 32. 1920. p. 33. — 11) Maruyama, Taiwan-Igakukai Zasshi [japanisch]. Bd. 107. 1911. S. 758. — 12) Ishihara, Kenbikyo-Gakukai Zasshi [japanisch]. Bd. 24. 1917. S. 1. — 13) Aoki u. Konno, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 139.

Nachdruck verboten.

Action of Heat on Botulinus Toxin in Canned Foods[1]).

[Department of Bacteriology, University of Illinois, Urbana Ill.]

By **Fred W. Tanner** and **Helen B. Twohey.**

While much work has been reported on botulism during the last few years, especially in America, the action of heat on the toxin in canned food, has not been intensively studied. Much of our information has come from experiments with broth cultures; such data might not accurately reflect the facts for canned foods.

Bengtson (2), in a preliminary note on the organism which we now know as Type C, Clostridium botulinum reported that animals inoculated with a dose of 0.01 ccm of a toxic filtrate heated to 60—65° C for 20 minutes developed no symptoms of illness; the unheated filtrate was toxic in doses of 0,001 ccm, or less. Toxin heated to 60° C. for 10 minutes was toxic for both guinea pigs and rabbits. Orr (10) reported a marked thermolability of the toxin in broth; he also stated that heating of any food material to the boiling point would destroy all traces of botulinus toxin, a phase of the question which was not studied by Orr. At 80° C. the toxins were destroyed in from 30 seconds to 5 minutes; at 72° C. in from two to 18 minutes, and at 65° C. in from 10 to 85 minutes. Orr's data are probably accurate for broth in which heat penetration would be more rapid than for canned food products. Nevin (9) in studying the strain of Clostridium botulinum isolated from a cottage cheese outbreak of botulism did not determine the thermolability of the toxin. However, there is evidence in attempts to immunize rabbits with a toxin which had been heated to 60° C. that toxicity was reduced. Shippen (11) studied the Nevin strain and reported that its toxin in broth cultures was destroyed between 65° to 70° C. in 20 minutes. Thom, Edmondson and Giltner (14) reported that the toxin of the Boise strain was attenuated by heating at 68° C. for 30 minutes and destroyed at some point between 70° C. and 73° C.; at 75° C. no appreciable heating was necessary to destroy the toxin. Armstrong Story and Scott (1) reported that the toxin of the strain which caused the Canton, Ohio outbreak of botulism from ripe olives was destroyed

1) Prepared from a Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in bacteriology. June 1924. By Miss Twohey.

by heating to 80° C. for 30 minutes in diluted brine. Grunfield (7) also announced that boiling ripe olives for 15 minutes would destroy the toxin. Sisco (13) detoxified the toxin in ripe olive brine by heating to 80° C. for two minutes.

The inadequacy of heating as it may be applied in the home is borne out by Dickson's report of cases in 1918. He reported one case from eating canned asparagus which had been "warmed up" after opening. On the other hand it is probable that heating has been sufficiently adequate in other cases and saved lives. This is well brought out by an account of botulism in Glendale, California, described in the Weekly Bulletin of the California State Board of Healts for March 3, 1923. A housewife opened a jar of home packed string beans and, after tasting of them herself, cooked them for 10 minutes. They were then served to the husband and six children. The wife died a week later in great agony. None of the other members of the family suffered from botulism. Fischer (6) described the Darmstadt outbreak affecting 21 persons, 11 of whom died. Those who died partook of some cold string beans as a salad. Others who partook of the beans after cooking were not made ill. The same outbreak was reported by Landmann.

In 1921 Burke, Elder and Pischel (4) warned that a food containing gas might appear to boil several minutes before the true boiling point was reached. They recommended that all suspected foods be boiled for 30 minutes before being tasted. Thom, also, has cautioned about the confusion that may result from gas containing foods appearing to boil.

In October of 1924 Schoenholz and Meyer (12) reported some experimental data on this subject. Their technic was practically the same as used in the present investigation. They reported a more rapid destruction of toxin in broth filtrates and in foods allowing rapid heat penetration. They heated toxin-containing foods both in the sealed tubes and also in open containers. They reported that after from 3 to 10 minutes heating "the product seemed to be boiling although the temperature was far below 100° C." It is unfortunate that they did not give specific temperatures instead of using such an indefinite expression as "far below 100° C." These authors also suggested that the pathogenic properties of such heated food are due to the ingestion of spores which have survived the heating process rather than a failure to destroy the free toxin in the infected food. Such a contention is not in accord with experimental data from other laboratories. It has been shown that it takes a great number of spores to cause botulism and the time interval is usually much longer than when the toxin is administered. Schoenholz and Meyer also stated that dilution of the food with water tended to aid detoxification. This seems reasonable since a greater amount of water would allow more rapid heat penetration.

Experimental.

The purposes of these experiments were to determine the effect of heat on the toxic properties of badly contaminated foods. We were not interested in the salvaging of decomposed infected foods nor in proving that such foods could be eaten. Suspicious foods should not be eaten but should be discarded. Foods suspicioned on account of possible infection with Clostridium botulinum should be burned and not thrown out where the spores may be easily disseminated in nature. Frequent statements have been made that if foods were heated to boiling, or were given other heat treatments, they would not cause intoxication. We were interested in determining how much heating was necessary to detoxify several of the ordinary canned foods when badly contaminated by Clostridium botulinum.

In our work the Nevin strain of Clostridium botulinum was used. This strain was reported by Orr (10), to produce a more resistant toxin than any of the eleven strains which he used. It was isolated by Nevin in 1914 (9) from home made cottage cheese and was classed as Type B. Other investigators have found it to form a very active toxin.

Canned foods as indicated in the tables were inoculated with about 1 ccm of a toxin-free spore suspension of Type B. Clostridium

botulinum. The spores were shown to be free from toxin by animal feeding. Plate counts showed 1,215,000 spores per ccm in the spore suspension. The cans were sealed with solder and incubated at 37° C. for four days or more. During this incubation, the cans swelled and after opening showed the characteristics of growth of Clostridium botulinum. These characteristics generally consisted of a very pronounced odor and a decomposed appearance in some cases. The foods which were used in these experiments were so badly decomposed that they would probably have been discarded by a housewife as unfit for consumption. After the incubation period the contents of the cans were transferred to large sterile flasks and stored in the refrigerator. This procedure probably gave an extremely toxic material with which to work. It is possible that it may have been more toxic than material from cans which are infected under actual commercial conditions of canning.

The actual technic employed for exposing the toxic foods to the action of the heat was that announced by Bigelow and Esty (3) for determining the thermal death points of bacterial spores. This method involves the use of special soft glass tubes, closed at one end, 7 mm inside diameter by 250 mm long with a thickness of wall of 1 mm. The constant temperature device was a De Khotinsky bath containing Crisco. The foods were put into these tubes in about 2 ccm amounts as near as possible. It was not easy to accomplish this with certain of the foods on account of the solid particles. With such foods as string beans there was no difficulty since the cans contained a toxic liquor. With sweet potatoes, however, a suspension had to be prepared. This was accomplished by delivering some sterile salt solution into the can and after emulsification removing some of this mixture for use in the tubes in the oil bath.

After the tubes were filled they were sealed in the flame and placed in racks. The racks containing the tubes were plunged into the oil at the beginning of an experiment in such a manner that the tubes were completely immersed under the oil. It was found after several experiments that the bath should be several degrees higher than the temperatures intended for the experiment. The cool tubes containing toxic material reduced the temperature to that at which the experiments were to be carried out. Tubes were withdrawn at the intervals shown in the tables and immediately put into ice water to stop the action of the heat. The tubes were kept cool until the end of the experiment after which all of them were opened and the contents fed to guinea pigs. Attempt was made to feed each guinea pig about 1 ccm of the heated food. The guinea pigs were kept under observation for some time. Pigs dying from 4 to 6 weeks after feeding were not regarded as dying of botulism unless autopsy and cultures showed the presence of the organism. Former investigations have shown that death might be delayed for some time, cultural tests from the brain proving that Clostridium botulinum was the etiologic agent.

Discussion of results.

The data in Table I show the results of heating toxin-containing foods at different temperatures for different periods of time. The time necessary for detoxifying the foods varied greatly with the type of food and the period and temperature of heating. Certain foods seemed

to allow the formation of a more potent toxin. If toxin destruction proceeds in a logarithmic manner we would expect that it would take

Table I.

Food	Time in minutes required for detoxification				
	100° C.	90° C.	80° C.	70° C.	60° C.
Asparagus	10	35	35	50	Not in 4½ hours
Beets	20	40	35	50	di.
Corn	12	45	30	45	„
Hominy	15	35	28	50	„
Kidney beans	8	33	30	45	„
Peas	8	25	30	45	„
Potted ham	15	28	25	50	4 hours
Salmon	8	1)	2)	2)	Not in 4½ hours
Sardines	12	33	60	2)	id.
String beans	4	28	40	45	3)
Sweet potatoes	4	45	55	3)	Not in 4½ hours

Table II.

Table II, showing application of results to household methods at 100° C.

Food	Remarks		
	Time req. to reach 100° in open kettle	Detoxification compared	
		open kettle	closed tubes
Asparagus	10 min.	15 min.	9 min.
Beets	10 „	Not detoxified in 20 min.	20 „
Corn	10 „	id.	12 „
Hominy	10 „	20 min.	15 „
Kidney beans	10 „	Not detoxified in 20 min.	8 „
Peas	7 „	15 min.	8 „
Potted ham	5 „	id.	15 „
Salmon	10 „	Not detoxified in 20 min.	8 „
String beans	10 „	id.	4 „
Sweet potatoes	7 „	15 min.	4 „

Table III.

Showing the results of heating the foods to as near 85° C. as possible.

Food	Remarks		
	Time req. to reach 85° in open kettle	Detoxification compared	
		open kettle	closed tubes
Asparagus	7 min.	50 min.	35 min.
Beets	7 „	50 „	35 „
Corn	15 „	55 „	30 „
Hominy	7 „	45 „	28 „
Kidney beans	10 „	55 „	30 „
Meat	5 „	60 „	25 „
Peas	10 „	Not detoxified in 60 min.	30 „
Salmon	10 „	id.	Not detoxified in 60 min.
String beans	7 „	60 min.	40 min.
Sweet potatoes	7 „	Not detoxified in 60 min.	50 „

1) Not detoxified in 55 minutes.
2) Not detoxified.
3) Detoxification questioned.

longer to detoxify a material having more toxin than a material with fewer toxin molecules.

The data secured in the above study indicate a rather wide range of thermolability when all of the foods used are considered. It seems reasonable to assume, however, that the factor of heat penetration is one of the important influencing factors. In the processing of canned foods for the destruction of bacteria, the factors which influence heat penetration are important ones. They have much to do with determining the times and temperatures used. In the same manner these factors probably influenced the results presented above. Even though small tubes were employed to shorten the time required for penetration of heat, this factor cannot be entirely eliminated.

From the tables it will be seen that those foods which have free liquor and which allow heat to penetrate rapidly by convection, such as string beans, hominy, kidney beans, peas, etc., are generally more quickly detoxified. This is true for the experiment at 100° C., especially. Some of our tubes contained portions of the solid food. In these there may have been toxin which was protected from the action of the heat. One must also keep in mind the possibility of a more potent toxin in certain foods than in others.

In order to secure some information on the thermolability of toxins with conditions under which the house-wife works, two experiments were conducted in open sauce-pans over a gas burner such as is used in the ordinary kitchen. All of the foods were heated to boiling under these conditions for from 2 to 20 minutes and at 85° C. for from 25 to 60 minutes. Every attempt was made to carry out these two experiments under the same conditions that a house-wife might use. It is difficult to determine the temperature accurately in a boiling mass but with a thermometer one may follow it with sufficient accuracy for the purposes of this experiment. All of the foods boiled at about 100° C. They had been stored in flasks under atmospheric pressure and had been frequently shaken; thus they were probably not heavily impregnated with gas. The barometric pressure on the floor of the building in which these experiments were carried out is such that the boiling point of water would be between 99 and 100° C. At 100° C. in the open dish sweet potatoes, peas, asparagus, and potted ham were detoxified in between 10—15 minutes, hominy in between 15—20 minutes while string beans, kidney beans, and salmon, corn and beets were still toxic after 20 minutes. At 85° C. the results showed a greater viability of the toxin. The comparative times required for detoxification of the foods under the conditions mentioned are probably not of great significance. Of more importance is the fact that a short heating period is not sufficient to destroy the toxin in badly contaminated foods.

Conclusions.

1) Canned foods containing **Clostridium botulinum** toxin required from 4 to 20 minutes heating at 100° C., from 25 to 45 minutes at 90° C., from 25 to 60 minutes at 80° C., from 45 to 75 minutes at 70° C., and longer than $4^1/_2$ hours at 60° C., for detoxification when heated in tubes under the conditions mentioned in the paper. — 2) The variations in times required were explained on the basis of heat pene-

tration and variations in toxin content. Probably the same factors determine the destruction of toxin in canned foods that explain the destruction of the bacteria during the canning process. — 3) Heating of toxic foods to boiling under the usual conditions may not render them free from toxin. Suspicious foods, whether preserved by canning or other procedures, should not be eaten.

Literature.

1) Public Health Reports. Vol. 34. p. 2877—2905. — 2) Ibid. Vol. 37. p. 164—170. — 3) Journ. Inf. Dis. Vol. 27. p. 602—617. — 4) Arch. Intern. Med. Vol. 27. p. 265—304. — 5) Ibid. Vol. 22. p. 483—495. — 6) Ztschr. f. klin. Med. Bd. 59. S. 56—77. — 7) Journ. Amer. Med. Assn. Vol. 74. p. 691. — 8) Hyg. Rundsch. Bd. 14. S. 449. — 9) Journ. Inf. Dis. Vol. 28. p. 226—231. — 10) Journ. Med. Res. Vol. 42. p. 127—136. — 11) Arch. Intern. Med. Vol. 23. p. 346—361. — 12) Journ. Inf. Dis. Vol. 35. p. 361—389. — 13) Journ. Amer. Med. Assn. Vol. 74. p. 690. — 14) Ibid. Vol. 73. p. 907

Ein Beitrag zur Rolle des B. proteus bei bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie „Emil von Behring“ Marburg (Lahn) (Direktor: Prof. Dr. Dold).]

Von Dr. med. vet. **Albert Demnitz.**

Aus der bis zum Jahre 1905 erschienenen Literatur folgerten Levy u. Fornet (1), daß das Bacterium proteus nur selten ursächlich bei Nahrungsmittelvergiftungen des Menschen beteiligt sei. Heute kann es keinem Zweifel mehr unterliegen, daß Erkrankungen des Menschen nach Genuß von proteusbefallenen Nahrungsmitteln, insbesondere von Fleisch und Wurst, häufiger sind, als man auf Grund der Literaturangaben annehmen muß, bleiben doch meines Erachtens Einzelfälle meist unerkannt.

Soweit ich aus der mir zugänglichen Literatur entnehmen konnte, wurde das Bacterium proteus, das nach Hauser fast überall vorkommt, wo Fäulnis eintritt, zum erstenmal 1893 in Straßburg als Erreger einer „Fleischvergiftung“ nachgewiesen, wo es Levy (2) in Fleisch, nach dessen Genuß 18 Personen an einer heftigen, akuten hämorrhagischen Gastroenteritis erkrankt waren, fand. Beim weiteren Nachforschen wurde derselbe Keim aus den Schlammkrusten eines Eisschrankes isoliert, in dem das Fleisch aufgehoben war. Ebenso konnte aus dem Stuhl und den erbrochenen Massen einer Person, die schließlich der Vergiftung zum Opfer fiel, Proteus in Reinkultur gezüchtet werden. Bei der Sektion erwies sich das Herzblut steril; aus dem Darminhalt war wiederum Proteus in Reinkultur zu gewinnen. Da auch im Experiment bei proteusinfizierten Tieren das Herzblut sich fast regelmäßig steril erwies und die mit dem von v. Bergmann und Schmiedeberg (3) dargestellten Sepsin angestellten Tierversuche mit der natürlichen Erkrankung in allen Punkten übereinstimmten, nahm Levy eine toxische Wirkung des Bacterium proteus an.

In dem von Wesenberg (4) beschriebenen Fall konnte aus dem Fleisch einer wegen traumatischer Herzbeutelentzündung notgeschlachteten Kuh Proteus isoliert werden. Das Fleisch hatte in einem sehr dumpfigen Keller übereinandergeschichtet gelagert. Erkrankt waren nur die Personen, die rohes Hackfleisch oder

schwach gebratene Leber verzehrt hatten. Die diarrhoischen Entleerungen sollen grünlich bzw. bräunlich ausgesehen und auffallend unangenehm gerochen haben. Da Stuhlproben nicht mehr zu erhalten waren, fehlt der exakte Beweis dafür, daß der im Fleisch nachgewiesene Keim auch de facto der Erreger der Epidemie gewesen ist.

In den Jahren 1899 bis 1901 sind von Silberschmidt (5), Glücksmann (6), Pfuhl (7) und Schumburg (8) Nahrungsmittelvergiftungen auf Proteus-Grundlage beschrieben worden, von denen weit über 100 Personen betroffen wurden, darunter ein Todesfall.

Pergola (9) isolierte aus Schweinefleisch, das zu Wurst verarbeitet war, Proteus-Bakterien. Nach dem Genuß dieser Wurst waren einige Personen erkrankt. Ob der ermittelte Proteus-Stamm die Ursache der Erkrankung war, konnte von Pergola nicht entscheidend beantwortet werden, weil er weder die Fäzes und die erbrochenen Massen zur bakteriologischen Untersuchung noch Blut zur serologischen Prüfung erhalten konnte. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, daß der ermittelte Proteus die Ursache der Erkrankung war.

Mayer (10) und Mandel (11) führen eine Proteus-Infektion von 46 Soldaten eines Münchener Regiments im Jahr 1912 auf die Aufnahme von verdorbenen Bratfischen zurück. In diesem Fall sind weitgehende bakteriologische Untersuchungen des Stuhles von 28 Patienten durchgeführt worden. Zu Beginn der Erkrankung wurde Proteus allein und in großen Mengen im Stuhle ermittelt, verschwand aber in den nächsten Tagen bei den meisten Patienten, um bei einem Teil derselben einer gänzlich veränderten Darmflora Platz zu machen. Das Serum von 11 Kranken agglutinierte einen Proteus-Stamm in der Verdünnung 1:25.

v. Rottkay (12) berichtet 1910 über eine Proteus-Infektion mit tödlichem Ausgang, die unter dem Bild des Typhus abdominalis verlief. Darum wurde die Untersuchung von vornherein besonders sorgfältig und umfassend auf die Ermittluung von Typhusbakterien eingestellt, deren Nachweis jedoch nicht gelang. Dagegen konnte aus Stuhl und Milz ein Proteus-Stamm isoliert werden, der in seinem biochemischen Verhalten vom typischen Proteus vulgaris abwich. v. Rottkay vermutete eine Fleischvergiftung.

Mit Ausnahme des von v. Rottkay beschriebenen Falles berichten die Autoren übereinstimmend, daß klinisch stets der Symptomenkomplex der akuten Gastroenteritis in mehr oder weniger ausgeprägter Form zusammen mit mäßigem Fieber im Vordergrund stand. Erkrankungen des Nervensystems fehlten. Dennoch können Proteus-Infektionen beim Menschen schwere zerebrale und gefäß-neurotische Schädigungen bewirken, auf die, wenn auch nicht im Zusammenhang mit einer „Fleischvergiftung", Much und Soucek (13) aufmerksam machen. Neuerdings hat Schmidt (14) einen Fall von Wurstvergiftung mit ausgesprochenen Botulismuserscheinungen beschrieben, der nach Ansicht des Medizinaluntersuchungsamtes St. deswegen auf Proteus zurückzuführen wäre, weil aus dem Blute einer gestorbenen Person zahlreiche äußerst pathogene Proteus-Bakterien isoliert werden konnten. Dieser Auffassung kann man nicht ohne weiteres zustimmen. Die Annahme liegt doch viel näher, daß hier Botulismustoxin in den tieferen Schichten der Wurstkonserve schon präformiert war, und daß Proteus erst nach Oeffnung des Glases hinzutrat. Jedenfalls erscheint es sehr gewagt, eine Proteusintoxikation bzw. -infektion als Ursache einer Krankheit ansprechen zu wollen, deren gesamte klinischen Symptome so überaus typisch für Botulismus und so grundverschieden von denen sind, die bisher bei Proteus-Intoxikationen beobachtet wurden. Außerdem spricht der pathologisch-anatomische Befund im Falle Schmidt nicht für eine Proteus-Vergiftung.

Bei der Mehrzahl der eben angeführten Fälle ist der exakte Nachweis von kausalen Zusammenhängen zwischen den geschilderten Erkrankungsfällen und den als krankmachende Ursache jeweils angesehenen Nahrungsmitteln keineswegs erbracht. Wiederholt war Untersuchungsmaterial teils von Patienten, teils von den genossenen Nahrungsmitteln nicht mehr zu erhalten. Andererseits aber ist zu bedenken, daß in manchen Fällen eine größere Anzahl von Menschen gleichzeitig unter gleichen Symptomen nach Genuß von nachweislich proteusinfizierten Fleischwaren erkrankte, so daß die Frage, ob die Erkrankung trotz fehlender Stuhl- und Blutuntersuchungen auf den Genuß solchen Fleisches zurückgeführt werden kann, wahrscheinlich zu bejahen ist. Wenn ferner gelegentlich Proteus nur aus den Stuhlproben ermittelt

wurde, so ist die Tatsache doch von ausschlaggebender Bedeutung, daß dieser Keim regelmäßig in den Stühlen einer größeren Anzahl gleichzeitig unter gleichen Symptomen erkrankter Personen festgestellt wurde, und daß Proteus keineswegs zu den gemeinen Darmschmarotzern gehört. Jedenfalls ist nach Weil u. Felix (15) sein Vorkommen in menschlichen Stuhlproben ein recht seltenes.

Im folgenden möchte ich über einen Fall bakterieller Nahrungsmittelvergiftung berichten, bei dem ich selbst Leidtragender war:

Am 14. Sept. v. J. erkrankte ich 6 Std. nach Genuß von ca. 50 g Blutwurst, die frisch aus einer hiesigen Fleischerei bezogen war, an einem heftigen Darmkatarrh. In den nächsten Vormittagsstunden ließen die diarrhoischen Entleerungen etwas nach, dafür aber stieg die Temperatur bis zum Nachmittag auf 40,1. Hierzu gesellten sich Kopfschmerzen, beträchtliche Schwäche und Apathie. Empfindliches Abdomen. Puls 120. Kein Milztumor. In den Abendstunden setzte wieder heftiger Durchfall ein, während das Sensorium etwas freier wurde. Die Exkremente waren dünnflüssig, bräunlich und mit Blut und zahlreichen Schleimflocken durchsetzt. Die Stühle der folgenden Nacht wiesen einen immer stärker werdenden widerlichen Geruch auf, der mich an den Geruch proteusüberwucherter Kulturplatten erinnerte. Am 4. Krankheitstage ging die Temperatur auf die Norm zurück. Der Durchfall hörte auf. Schon am 15. Sept. waren umfassende bakteriologische Untersuchungen der übrig gebliebenen Wurst und des Stuhles angestellt worden, durch die aber weder Typhus- noch Paratyphusbakterien, noch Angehörige der Dysenteriegruppe ermittelt wurden. Dafür ging Proteus auf allen Stuhlplatten mehr oder weniger dominierend an. Auch in der Wurst konnte neben anderen Saprophyten Proteus in großer Menge nachgewiesen werden.

Bakteriologische Untersuchungen.

Die Diagnose — Proteus vulgaris — ist auf Grund folgender Eigenschaften gestellt worden:

Gramnegative, coliähnliche, sehr bewegliche Stäbchen, Schwärmvermögen auf 5proz. Gelatine, die rasch verflüssigt wird. Das Stäbchen greift Traubenzucker unter Gasbildung an. Lackmuspeptonwasser, dem Saccharose bzw. Maltose zugesetzt ist, wird unter Gasbildung gerötet. Milchzucker wird nicht angegriffen. Milch gerinnt nicht, wird später peptisiert. Lackmusmolke bleibt zunächst unverändert, am dritten Tage deutliche Bläuung. Lackmuslaktoseagar bleibt blau. Mannit wird nicht zersetzt. In Neutralrot mäßige Gasbildung. Fluoreszenz fehlt. Auf gewöhnlichem Agar H-Formen des Proteus vulgaris. Auf Bouillon keine Häutchenbildung. Braunfärbung der Bouillon, die sich nach Jötten (16) bei gewöhnlichen Proteus-Stämmen nach 2 Wochen einstellen soll, fehlt. Nach den übereinstimmenden Untersuchungen von Schäfer (17) und Wolff (18) wird fast stets Indol gebildet, wenn Maltose und Saccharose angegriffen werden. Zu der von uns angestellten Indolprobe, die wir nach Ehrlich (19) mit p-Dimethylamidobenzaldehyd ausführten, verwendeten wir 1—5tägige Peptonwasserkulturen. Die fünf Proben fielen nicht einheitlich aus. Die Proben vom 1., 3., 4. und 5. Tage fielen positiv aus. Wir prüften hiernach auch unbeimpftes Peptonwasser, erhielten aber keine positive Reaktion. Eine neu hergestellte Menge Peptonwasser

(Pepton sicc. Witte 2,0,
Natrium cloratum pur. 0,5,
Aqua dest. 100,0,
Kal. nitr. pur 0,8proz. Lösung [30—50 Tropfen]
ergab unbeimpft positive Indolreaktion. Es ist demnach zweckmäßig, jede neue Herstellungsnummer vor Beimpfung auf Indol zu prüfen, um Fehlresultate zu vermeiden.

Auf Grund seiner Eigenschaften scheint der soeben beschriebene Proteus-Stamm allerdings nur in kultureller und biochemischer Hinsicht den Fleckfieber-X-Stämmen näher zu stehen, für die Jötten (16) mit der Einschränkung, daß die Unterschiede zwischen gewöhnlichen Proteus-Stämmen und X-Stämmen nur quantitativer, nicht qualitativer Art seien, in vergleichenden Untersuchungen folgende Merkmale angibt:

	Gewöhnlicher Proteus	Proteus X
Bouillon:	Starke Trübung nach 24 bis 48 Std., Häutchenbildung (Ausnahme 1 Std.). Ausgesprochene bräunliche Verfärbung bei den meisten Stämmen nach der 2. Woche	Schwächeres Wachstum, keine Häutchenbildung. Braunfärbung höchstens leicht angedeutet
Indol:	Noch nach 2 Wochen kein Indol, nur 3 Stämme bilden schon nach 3 Tagen Indol	Schon nach 24 Std. kräftige Indolbildung
Gelatine:	Langsame Verflüssigung	Kräftige schnelle Verflüssigung
Mannitplatten:	O. V.	Sehr schwache Rotfärbung
Maltose- und Saccharoseplatten:	Im allgemeinen o. V., nur einzelne Stämme Schwankungen, leichte Rotfärbung	Leuchtend rot (keine Schwankungen)
Neutralrot:	Kräftige Gasbildung, Fluoreszenz, Verflüssigung d. Agars	Geringe Gasbildung, Fluoreszenz selbst nach 48—72 Std. nur angedeutet
Löffler I:	Deutliche Gerinnung, Bodensatz, besonders schmutzige Schaumbildung	O. V.

Die aus Wurst und Stuhl angelegten Proteus-Bouillonkulturen, mit denen Brotwürfel getränkt wurden, erwiesen sich im Fütterungsversuch stark mäusepathogen. Proteus wurde nur im Darm der eingegangenen Mäuse nachgewiesen; Herzblut steril.

Serologische Prüfung.

Die am 16. 9. ausgeführte serologische Untersuchung einer Blutprobe von mir ergab negativen Widal gegenüber Typhus, Paratyphus und Ruhrbazillen. Nach längerer Rekonvaleszenz konnte aus äußeren Gründen erst am 29. 9. eine weitere serologische Blutuntersuchung ausgeführt werden, wobei der aus dem Stuhl gezüchtete Proteus-Stamm noch in einer Verdünnung von 1:400 vom Patientenserum agglutiniert wurde. Seren von gesunden Menschen besaßen diese Fähigkeit nicht. Wir bestätigen damit Klieneberger (20), der durch seine Untersuchungen bewies, daß menschliche Normalseren den Proteus vulgaris in der Verdünnung von 1:20 aufwärts nicht mehr agglutinieren. Leider war später die Reinzüchtung von Proteus, die im allgemeinen

nicht die geringsten Schwierigkeiten bietet, aus einer 14 Tage alten Ausgangskultur der Wurst nicht mehr geglückt, so daß das Verhalten des Wurststammes gegenüber Patientenserum nicht geprüft werden konnte.

Zusammenfassung.

1) Durch unsere Untersuchungen wurde sowohl im Patientenstuhl als auch in der Wurstprobe Bacterium proteus nachgewiesen.

2) Die aus der Wurst und dem Stuhl herausgezüchteten Stämme zeichnen sich durch gleichmäßiges morphologisches, kulturelles und tierpathogenes Verhalten aus.

3) Das Patientenserum beeinflußte den aus dem Stuhle gezüchteten Stamm spezifisch und hochwertig. Aus äußeren Gründen war es nicht möglich, das serologische Verhalten des Wurststammes zu prüfen.

Hiernach erscheint mir die Annahme des Zusammenhanges zwischen der Erkrankung und den mit der Wurst aufgenommenen Proteusbazillus begründet.

Literatur.

1) Levy u. Fornet, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. S. 161. — 2) Levy, E., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 17. S. 471. — 3) v. Bergmann u. Schmiedeberg, zit. nach Levy, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak. Bd. 34. S. 34. — 4) Wesenberg, Ztschr. f. Hyg. Bd. 28. — 5) Silberschmidt, Ibid. Bd. 30. — 6) Glücksmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. S. 696. — 7) Pfuhl, Ztschr. f. Hyg. Bd. 35. S. 265. — 8) Schumburg. Ibid. Bd. 41. — 9) Pergola, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. S. 418 u. Bd. 63. S. 193. — 10) Meyer, Münch. med. Wochenschr. 1912. S. 2152. — 11) Mandel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. — 12) v. Rottkay, Dtsch. med. Wochenschr. 1910. S. 750. — 13) Much u. Soucek, Ibid. 1917. S. 1191. — 14) Schmidt, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1925. Nr. 37. — 15) Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1917. Nr. 13. — 16) Jötten, Berl. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 12. — 17) Schäffer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. S. 430. — 18) Wolff, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. — 19) Ehrlich, zit. nach Klimmer, Technik und Methodik der Bakteriologie und Serologie. S. 268. — 20) Klieneberger, Ztschr. f. Hyg. Bd. 58. S. 5.

Bakteriologische Untersuchung bei Ausbruch einer Nahrungsmittelvergiftung in einer Seidenspinnerei.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor Prof. Dr. K. Aoki).]

Von Prof. Dr. **K. Aoki** und Dr. **Kikuo Sakai.**

Es ist eine schon erwiesene Tatsache, daß sowohl Bazillen der Paratyphus B-Gruppe als auch Enteritidis-Gärtner-Bazillen als genuine Erreger bei Nahrungsmittelvergiftung eine große Rolle spielen. Dagegen scheinen die Mikroben, über welche hier berichtet werden soll, noch von niemand als Erreger von Nahrungsmittelvergiftung beobachtet worden zu sein.

Im Oktober 1923 brach in einer Seidenspinnerei in Sendai plötzlich eine Nahrungsmittelvergiftung bei 50 Fabrikarbeiterinnen aus. Am 1. 10., morgens früh fühlten sie heftigen Bauchschmerz, worauf mehrmaliges Erbrechen und Diarrhoe erfolgte. Die erbrochene Masse bestand aus gelblichem Wasser und Speisemasse. Stuhlgang meistens wässerig. Fieber je nach dem Individuum verschieden, so daß es bei den einzelnen Kranken zwischen 37,5° C und 40° C schwankte. Puls 90—130 in der Min. Ferner hatten die Patientinnen Kopfschmerz, Durst, Beklemmungsgefühl an Bauch und Brust und allgemeine Mattigkeit. Diese Symptome waren am nächsten Tage vorüber, so daß die Kranken wieder ganz hergestellt waren.

Am Abend desselben Tages, als die Massenerkrankung ausgebrochen war, wurden erbrochene Masse und Stuhlgang zur Untersuchung gebracht; es handelte sich um die erbrochene Masse von 13 und um die Fäzes von 24. Da durch Ermittelung festgestellt worden war, daß die Vergiftung wahrscheinlich von dem Genießen gekochten Tintenfisches herrührte, wurde der übriggebliebene Rest des gekochten Tintenfisches mitgebracht und ferner wurden von Schwerkranken Blutproben entnommen und sogleich streng bakteriologisch untersucht. Sie wurden auf Endo-Platten ausgestrichen und das Blut wurde in Gallennährböden gezüchtet. Auf Endo-Nährböden wuchsen dreierlei Kolonien isoliert: eine Art der Kolonien war klein, rundlich, farblos und fein granuliert, doch scheint sie etwas härter als eine Typhuskolonie zu sein. Eine andere Art von Kolonie wurde beobachtet, welche wie Coli aussah, und noch eine andere, welche, nach außen sich ausbreitend, wuchs. Aus diesen dreierlei Kolonien wurden Reinkulturen hergestellt, die einzeln genau untersucht wurden.

Kultur I. 27 Stämme: Sie wurden mikroskopisch untersucht. Es handelte sich bei diesen Mikroben um Kokken, welche in Ketten gegliedert sind und nach Gram stark positiv waren. Auf Agar wachsen sie als ganz kleine runde Kolonien, welche homogen granuliert sind und feucht glänzen. Sie bilden auf Schrägagar so dünne Beläge wie Streptokokken und in Bouillon kurze Ketten, welche aus 15—20 Gliedern bestanden. In Bouillon trat diffuse Trübung mit geringem Bodensatz auf. Milch wurde nach 4 Tagen koaguliert, Lackmusmolke nach 3 Tagen etwas gerötet. Sie verursachten keine Hämolyse auf Blutagarplatte und schienen Tieren gegenüber besondere Pathogenität zu entfalten. Nach diesen Eigenschaften müssen sie als eine Art von Streptokokken betrachtet werden. Was für Streptokokken stellen sie nun dar? Sie wurden bei uns mit Streptococcus pyogenes verglichen. Es wurde festgestellt, daß sie von letzteren 1) dadurch, daß sie auf Blutagar keine Hämolyse verursachen, 2) dadurch, daß sie auf Endo-Nährboden gut wachsen, differenzierbar sind. Infolgedessen scheinen sie als Enterokokken betrachtet werden zu müssen, welche gewöhnlich bei Darmerkrankungen zu beobachten sind, oder in Milch vorkommen.

Kultur II. 34 Stämme: Coliartige Kulturen wurden weiter untersucht, um festzustellen, ob Paratyphus B- oder Gärtner-Bazillen darunter vorhanden seien. Die gramnegativen Stäbchen waren beweglich. Ferner wurden sie auf verschiedenen Nährböden gezüchtet und 3 Wochen lang beobachtet. Dabei wurden 20 Stämme davon als typische Coli festgestellt. Die übrigen 14 Stämme zeigten typische Gasbildung. Milch wurde jedoch dabei nicht geronnen. 4 Stämme davon machten Lackmusmolke rot und die übrigen blau. Diese 14 Stämme wurden in verschiedennen repräsentierenden Seris streng agglutinatorisch untersucht, und zwar in Paratyphus B-, Mäusetyphus-, Cholera suis- und Gärtner-Seren. Hierbei wurde festgestellt, daß sie in keinen Seris reagierten. Infolgedessen müssen sie alle als Colibazillen betrachtet werden.

Kultur III. 14 Stämme:

Sie wurden als Proteus vulgaris festgestellt, weil sie auf Agar sich ausbreitend wachsen. Es gab aber auch nach Gram-negative Stäbchen, die auf verschiedenen Nährböden wie typische Proteus vulgaris wachsen.

Aus obigen Untersuchungen erhellte, daß dreierlei Mikroben, nämlich Streptokokken, typische und atypische Coli- und Proteus-

Bazillen in den Untersuchungsmaterialien vorhanden waren, und zwar waren sie in folgendem Zahlenverhältnis darin enthalten:

a) 13 erbrochene Massen wurden bakteriologisch untersucht, davon 3 steril; unter den 10 anderen wurden Streptokokken bei 7 nachgewiesen, und zwar bei 5 fast als Reinkultur, bei den übrigen 2 mit Coli-Bazillen gemischt; in den übrigen 3 Fällen wurden 2mal Coli-Bazillen allein und 1mal Coli- und Proteus-Bazillen nachgewiesen.

b) 24 Proben Kot wurden bakteriologisch untersucht. Bei 5 Proben von Kot wurden Streptokokken fast rein, bei 5 anderen Streptokokken mit Coli-Bazillen gemischt, bei 9 Streptokokken mit Coli und Proteus gemischt, bei 4 Coli und Proteus und bei 1 Probe Coli allein nachgewiesen.

c) Speiserest (gekochter Tintenfisch):

Darin wurden Streptokokken ganz rein und massenhaft nachgewiesen. Merkwürdigerweise wurden aber keine anderen Bakterien nachgewiesen.

Nach diesen Ergebnissen wurden dreierlei Bakterien in folgendem Verhältnis nachgewiesen.

	Speiserest	Mageninhalt	Darminhalt
Streptokokken	1:10	7:10	19:24
Colibazillen	0	5:10	20:24
Proteusbazillen	0	1:10	13:24

Streptokokken wurden in allen 3 Materialien in großer Zahl nachgewiesen. Sie fanden sich im Speiserest massenhaft, und zwar in reinem Zustande, dann im Mageninhalt zu 70 Proz. und im Darminhalt in ebenso starkem Verhältnis. Während beinahe fast ebenso viele Coli wie Streptokokken im Magen- wie Darminhalt nachgewiesen wurden, waren sie im Speiserest gar nicht vorhanden. Was Proteus-Bazillen anbelangt, so wurden sie hauptsächlich im Darminhalt und nur in einem Mageninhalt nachgewiesen. Hier muß hinzugefügt werden, daß die oben beschriebenen Streptokokken bald nicht mehr nachzuweisen waren, wenn die Krankheit aufgehört hatte.

Zum Schlusse muß noch eine andere Untersuchung hinzugefügt werden: Bei der Materialbeschaffung wurden auch den 5 schwerst Erkrankten Blutproben entnommen, das zunächst, wie schon oben bemerkt, bakteriologisch untersucht wurde. Es ergab sich dabei, daß alle Blutproben ganz steril blieben. In diesen Seris, welche aus der Blutprobe dargestellt waren, wurden ferner alle Typhus- und Paratyphusgruppe-Bazillen, welche bei Nahrungsmittelvergiftung vorzukommen pflegen, wie Paratyphus B-Schottmüller, Mäusetyphus, Hogcholera und Enteritis Gärtner, agglutinatorisch untersucht und wurde festgestellt, daß keine Bazillen darin positiv reagierten.

Nach allen obigen Ergebnissen sowohl aus der bakteriologischen als auch der serologischen Untersuchung der Exkrete und des Blutes wurde sicher festgestellt, daß sowohl Paratyphusgruppe-Bazillen als auch Gärtner-Bazillen für diese Nahrungsmittelvergiftung nicht verantwortlich zu machen sind. Wenn die Ursache der Vergiftung auf irgendwelchen Bakterien beruhen würde, so müßten hier in erster Linie Streptokokken als Erreger betrachtet werden, weil sie vor allem im Speisereste, nämlich im gekochten Tintenfische, durch dessen Genuß die Vergiftung hervorgerufen worden sein soll, in reinem Zustande, und

zwar massenhaft nachgewiesen wurden. Diese Mikroben wurden ferner im Magen und Darm bei vielen Personen in großer Zahl nachgewiesen.

Doch möchte ich damit die Ursache dieser Nahrungsmittelvergiftung nicht erklären, weil andererseits keine Versuche ausgeführt werden konnten, durch die die Giftwirkung der Mikroben entweder bei Menschen oder bei Tieren hätte erwiesen werden können. Allerdings wurde mindestens so viel nachgewiesen, daß Enterokokken, welche im Darme nicht konstant vorhanden sind, mit der Speise im Magen vorhanden und von dort aus in den Darmtraktus in großer Zahl gelangt waren. Infolgedessen ist es sehr wohl denkbar, daß diese Bakterien dabei eine gewisse Rolle gespielt haben. Schon Escherich bemerkte, daß eine Art von Streptokokken bei Darmerkrankungen von Säuglingen eine ursächliche Rolle spielt. Ferner machten wir täglich bei der Kotuntersuchung sowohl von Kindern als auch von Erwachsenen die Erfahrung, daß sogenannte Enterokokken (Streptokokken) massenhaft, ja sogar in reinem Zustande, nachgewiesen wurden. Genauere Mitteilung darüber soll später erfolgen. Hier möchten wir nur darauf aufmerksam machen, daß außer den Bakterien aus der Paratyphus-Enteritis-Gruppe auch noch andere, uns unbekannte Bakterien bei der Nahrungsmittelvergiftung teilnehmen können.

Filtrationsversuche an Tuberkelbazillen.

[Aus der Prosektur des Wilhelminenspitals, Wien XVI. (Vorstand: Prof. Dr. Richard Wiesner).]

Von Dr. **Alfred Fessler.**

Als erster hatte Fontes (1910) filtrierbare Formen des Tuberkelbazillus beschrieben. Im Filtrate von tuberkelbazillenhältigem Eiter entdeckte er Granula, die sich in Kulturen weiterzüchten ließen, und die er mit den Muchschen Granula für identisch hielt. Im Meerschweinchen bewirkten diese Granula den „Beginn der tuberkelbildenden Reaktion“, wobei sie sich teilweise wieder in typische, säurefeste Stäbchen umwandelten. In der deutschen Literatur wurden diese mit den bisherigen Kenntnissen vom Wesen des Tuberkelbazillus so sehr in Widerspruch stehenden Mitteilungen nur kurz referiert; weitere Beachtung fanden sie nicht. In Frankreich dagegen wurde die Frage der Filtrierbarkeit des Tuberkelbazillus aufgegriffen und in den letzten Jahren veröffentlichten Vaudremer und seine Mitarbeiter die Ergebnisse ihrer Untersuchungen, in denen sie die Entdeckung Fontes bestätigten. Auch auf diese Mitteilungen wurde in der deutschen Literatur, soweit wir festzustellen imstande waren, bisher nirgends genauer eingegangen. Im Centralbl. f. Bakt. sind diese Arbeiten nur zum Teil referiert. Die Frage der Filtrierbarkeit des Tuberkelbazillus ist nicht nur von theoretischer, sondern auch von praktischer Bedeutung. Wir sind doch z. B. bei unzweifelhaften tuberkulösen Prozessen öfters nicht in der Lage, die uns geläufigen Formen des Tuberkelbazillus in entsprechender Weise morphologisch nachzuweisen. Wir entschlossen uns daher, in vorurteilsloser

Weise die Angaben der französischen Autoren nachzuprüfen, wobei wir uns hauptsächlich auf die Veröffentlichungen Vaudremers und seiner Mitarbeiter stützten, die uns Vaudremer auf unser Ersuchen in dankenswerter Weise zur Verfügung stellte.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind kurz folgende:

Vaudremer filtrierte zunächst, angeregt durch die Mitteilungen Fontes, Tuberkelbazillenkulturen, die er nach einer von ihm ausgearbeiteten Weise in der Tiefe einer glyzerinfreien Kartoffelbouillon züchtete. In diesen „homogenisierten Kulturen" verlieren die Tuberkelbazillen angeblich ihre gewöhnliche Gestalt und nehmen eine „myzelartige" Beschaffenheit an. Auf den Fäden dieses Myzels befinden sich zahlreiche Granula. die Chamberland-Filter L_3 passieren. In den Filtraten solcher Kulturen entwickeln sich dann angeblich aus den Granula wieder myzelähnliche Kulturen, die den ursprünglichen zur Filtration verwendeten Kulturen gleichen. Nach der Ansicht Vaudremers soll es sich dabei um eine Abart der typischen Form des Tuberkelbazillus, scheinbar um eine Art Dauerform, handeln. Als diese Versuche beendet waren. gingen Hauduroy und Vaudremer daran, Kulturen, die sie in Peptonglyzerinwasser gezüchtet hatten, und endlich auch gewöhnliche Glyzerinkartoffelkulturen zu filtrieren. Sie verwendeten bei diesen Versuchen 1—2 Monate alte Stämme, schwemmten die Bazillen in physiol. Kochsalzlösung auf und filtrierten sie unter schwachem Drucke durch Chamberland-Filter L_3. Das Filtrat wurde bei 38° im Brutschrank gehalten. Nach 15 Tagen bildete sich am Grunde der Röhrchen ein aus einem zarten Geflechte bestehender Niederschlag. Bereits makroskopisch konnten in den Maschen dieses Geflechtes zahlreiche kleine, gelbe Häufchen wahrgenommen werden. Wurde das Filtrat jedoch mit 2proz. Peptonwasser angereichert, so bildete sich der Niederschlag bereits nach 48 Std. Bei Filtraten von Peptonglyzerinwasserkulturen erschien er ebenfalls bereits nach so kurzer Zeit. Das mikroskopische Aussehen dieser Kulturen wird ungefähr folgendermaßen beschrieben:

„L'aspect microscopique des cultures développées dans les deux filtrats étudiés est le même. L'examen des préparations fixées à l'alcool-éther, colorées rapidement (2 minutes) au Ziehl à troid sans décoloration ultérieure, laisse voir un lacis délicat de filaments anastomosés entre eux. Sur ces filaments on voit des grains inégalement distants les un des autres, fortement colorés. Le volume de ces grains varie entre la limite de la visibilité et la dimension d'un grain de millet. De place en place, on voit en outre des formes bacillaires courtes ou longues, granuleuses, incurvées ou rectilignes. Ces éléments. qui se colorent mal au bleu de méthylène, prennent fortement le violet de gentiane. Les grains sont Gram-resistants, les formes filamenteuses ne le sont pas.

Après coloration au Ziehl à chaud et décoleration par la solution de chlorhydrate d'aniline á 2 p. 100 on constate persistance de quelques éléments acido-résistants: cette acido-resistance est faible, puisque, après décoleration à l'acide nitrique. dilué à $^1/_3$, on ne trouve plus de formes colorées en rouge dans les préparations."

„Mit Alkoholäther fixierte und 2^1 nach Ziehl kalt gefärbte Präparate lassen ohne nachfolgende Entfärbung ein zartes Geflecht von untereinander verästelten Fasern erkennen. Auf diesen Fasern befinden sich in unregelmäßigen Abständen stark gefärbte Granula, deren Größe zwischen der eines Hirsekornes und der Grenze der Sichtbarkeit schwankt. Vereinzelt finden sich auch noch kürzere oder längere, gekörnte, gekrümmte oder auch geradlinige Bazillenformen, die sich mit Methylenblau schlecht, mit Gentianaviolett dagegen intensiv färben. Die Granula sind grampositiv, die Fäden des Geflechtes gramnegativ. Bei gewöhnlicher Ziehl-Färbung in der Hitze und Entfärbung mit 2proz.

Anilinchlorhydrat kann man auch spärliche säurefeste Elemente konstatieren. Bei Anwendung von Salpetersäure verschwindet die Säurefestigkeit."

Hauduroy und Vaudremer halten diese merkwürdigen Gebilde für atypische Formen des Tuberkelbazillus, die sich aus filtrierbaren Elementen desselben entwickeln. Diese filtrierbaren Elemente werden durch die beschriebenen Granula dargestellt, die mit den Muchschen Granula verwandt oder identisch sein und die den von Fontes beschriebenen Granula entsprechen sollen. Diese filtrierbaren Formen lassen sich zwar nicht auf Glyzerinkartoffel oder anderen für die übliche Form des Tuberkelbazillus gebräuchlichen Nährböden kultivieren, wohl aber in 2proz. Peptonwasser, in Peptonglyzerin, in glyzerinfreier Kartoffelbouillon und sogar in gewöhnlicher Bouillon. Eine Umwandlung in säurefeste Stäbchen konnte bisher in vitro nicht beobachtet werden.

Wie Vaudremer mitteilt, haben Besançon und Philibert bei Filtrationsversuchen mit Glyzerinkartoffelkulturen angeblich ähnliche Befunde erheben können. Andere Bestätigungen liegen bisher noch nicht vor.

Wie bereits oben erwähnt wurde, hat Vaudremer diesen atypischen Formen ähnliche bei seinen „homogenisierten Kulturen" beobachtet. Gessard und Vaudremer konnten übrigens ein solches atypisches, myzelartiges Wachstum auch bei ihren Versuchen, Tuberkelbazillen in möglichst nährstoffarmen Medien zu züchten, feststellen. Sie züchteten z. B. ähnliche Formen auf einem synthetischen Nährboden, den sie aus destilliertem Wasser und Ammoniak-, Magnesium-, Phosphor- und Kalziumverbindungen zusammensetzten. Ja, es gelang ihnen angeblich sogar, Tuberkelbazillen auf glyzerinfreier Kartoffelbouillon zu züchten, wobei sie als „Träger" (support) für die Kolonien an Stelle der Kartoffel ein Taschentuch, einen Lampendocht oder Löschpapier verwendeten („meche de lampe, soit du mouchoir en double autour d'une tige de verre, soit, enfin, du papier buvard sous quatre epaisseurs"). Auch auf diesem Nährboden verloren die Tuberkelbazillen ihre gewöhnliche Gestalt und wandelten sich in pilzförmige Kulturen um, die den in Filtraten typischer Tuberkelbazillen wachsenden Kulturen ähnlich sein sollen. Besançon, Hauduroy und Philibert haben endlich ähnliche Gebilde bei der histologischen Untersuchung alter Glyzerinbouillonkulturen entdeckt.

Die Angaben Vaudremers über atypische Formen des Tuberkelbazillus erinnern an ähnliche Mitteilungen, die einem aus verschiedenen Gründen entspringenden Verlangen Rechnung tragend, immer wieder von Zeit zu Zeit in der Literatur auftauchen, und auf die sich Vaudremer auch teilweise bezieht. Ferran und Kumbavi z. B. beschrieben saprophytenähnliche Formen, Dostal sah kokkenähnliches Wachstum, und Peju und Rajat endlich erhielten durch Behandlung mit 4proz. K.J. lange, verzweigte, vakuolige Gebilde, die Streptobazillen glichen. Soweit wir aus der Literatur ersehen konnten, wurden bisher diese Mitteilungen nicht überprüft, so daß keine Bestätigung dieser Angaben vorliegt.

Da es uns nicht gelungen ist, Tuberkelbazillen auf oder submers in glyzerinfreier Kartoffelbouillon oder Peptonglyzerinwasser zu züchten, mußten wir uns auf die Filtration von Glyzerinkartoffel- und Glyzerinbouillonkulturen beschränken. Einige Male versuchten wir auch die Filtration von Kulturen, die wir auf Eiernährböden gezüchtet hatten, und endlich auch von tuberkelbazillenhältigem Materiale.

Wir verwendeten zu unseren Versuchen 11 verschiedene Stämme: 8 Stämme vom Typus humanus [H 10, H 12, H 13, H 17, H 34, H 42, H 55 und M 28[1])], 2 Stämme vom Typus bovinus [B 9 und B 59] und 1 Stamm vom Typus gallinaceus [G 8]. Die Stämme vom Typus humanus züchteten wir mit Hilfe des von Loewenstein[2]) angegebenen Anreicherungsverfahrens aus tuberkelbazillenhältigem Materiale [Sputum, Kaverneninhalt, Eiter aus einem kalten Abszesse u. dgl.], die drei anderen Stämme wurden uns von dem staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsinstitute in Mödling [Direktor: Dr. Gerlach] zur Verfügung gestellt.

Die Filtrationsversuche wurden in insgesamt 70 Versuchsserien durchgeführt [Tab. Ia und Ib]. Davon entfallen 63 auf Tuberkelbazillenkulturen, und zwar wurden 38 Kulturen vom Typus humanus, 14 Kulturen vom Typus bovinus, und 11 Kulturen vom Typus gallinaceus filtriert. Meistens, nämlich 39mal, wurden gewöhnliche Glyzerinkartoffelkulturen filtriert. Diese Kulturen waren durchschnittlich 1—2 Monate alt. Viermal verwendeten wir 8—10 Wochen alte Kulturen, die auf Eiernährböden gezüchtet worden waren. Die Bazillenrasen wurden möglichst fein zerrieben und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Einige Male (10mal) filtrierten wir als Ersatz für die von Vaudremer verwendeten Peptonglyzerinwasserkulturen die zarten Häute, die auf der Oberfläche des Kondenswasser gewachsen waren. Diese Bazillen wurden im Kondenswasser zerrieben und aufgeschwemmt. 10mal endlich wurden Tuberkelbazillen filtriert, die auf der Oberfläche einer Glyzerinbouillon gezüchtet worden waren. Diese Kulturen waren durchschnittlich 8—16 Wochen alt. Die Bazillen wurden in der Bouillon zerrieben und aufgeschwemmt und mit der Bouillon, die teils unverdünnt belassen wurde, teils verdünnt wurde, filtriert. Nach der Angabe von Valtis wurden die Aufschwemmungen in etlichen Fällen vor der Filtration einige Tage im Brutschrank gehalten. Nach der Meinung dieses Autors würden die Bazillen dadurch einer Autolyse unterworfen, wodurch die filtrierbaren Elemente frei werden sollen. 7mal wurde tuberkelbazillenhältiges Material filtriert. In 6 Fällen stammte dieses Material von verkästen Drüsen von tuberkulösen Meerschweinchen resp. Kaninchen. Einmal filtrierten wir den Inhalt einer bei einer Sektion gewonnenen Mörtelniere. Auch dieses Material wurde einige Male nach den Angaben von Valtis vorbehandelt. Zur Filtration verwendeten wir ausschließlich Chamberland-Filter L_3, deren Dichtigkeit, den Angaben Vaudremers folgend, durch Filtration von Coli-Bazillen in jedem Falle ausgeprobt wurde. Filtriert wurde meistens mit einer Handpumpe, in selteneren Fällen mit einer Wasserstrahlpumpe. Bei jeder Versuchsserie wurde ein Teil des Filtrates ohne Zusatz gelassen, der andere Teil mit 2proz. Peptonwasser oder mit Peptonglyzerinwasser (2proz. Pepton, 3proz. Glyzerin), mit Glyzerinkartoffelbouillon, mit glyzerin-

---

1) Stamm 28 wurde aus den verkästen Drüsen eines an einer Spontantuberkulose zugrunde gegangenen Meerschweinchens Ms. 9 gezüchtet. Der Stamm verhielt sich kulturell und im Tierversuch wie ein dem Typus humanus zugehöriger Stamm.

2) Das Anreicherungsverfahren nach Loewenstein mit 15proz. H_2SO_4 oder 15proz. HCl bewährte sich besser als das Verfahren mit dem in seiner chemischen Zusammensetzung sehr veränderlichen Antiformin. Die von Loewenstein angegebenen überaus günstigen Ergebnisse konnten wir allerdings nicht bestätigen. Bei 44 Anreicherungsversuchen mit H_2SO_4 resp. HCl erhielten wir 10mal ein positives Resultat, bei 12 Versuchen mit Antiformin nur 1mal. Nach Loewenstein soll aber die Züchtung nach seinem Verfahren in jedem Falle gelingen.

Tabelle Ia.
Tuberkelbazillenkulturen.

Stamm	Versuchs-serie	Datum	Art der Kultur	Alter der Kultur (in Wochen)	Anmerkung
H 10	1	19. 11. 1924	Glyzerinkartoffel	8	.
H 12	11	28. 1. 1925	„	8	.
„	12	28. 1. 1925	„	6	Zimmertemperatur
„	17	6. 2. 1925	„	7	.
„	33	23. 3. 1925	„	8	3 Tage autolysiert
„	66	8. 9. 1925	„	12	.
„	68	8. 9. 1925	„	7	2 Tage autolysiert, Zimmertemperatur,
„	34	24. 3. 1925	Kondenswasser	8	1 Tag autolysiert
„	8	13. 12. 1924	Eiernährboden	8	.
„	13	28. 1. 1925	„	8	.
H 13	7	22. 11. 1924	Glyzerinkartoffel	6	Niederschlag
„	26	2. 3. 1925	„	10	.
„	39	8. 4. 1925	„	6	Zimmertemperatur
„	41	11. 4. 1925	„	6	3 Tage autolysiert
„	61	28. 7. 1925	„	6	.
„	69	8. 9. 1925	„	12	.
„	6	29. 11. 1924	Kondenswasser	6	.
„	20	20. 2. 1925	Glyzerinbouillon	9	Unverdünnt
„	21	20. 2. 1925	„	9	Verdünnt
„	30	12. 3. 1925	„	8	Verdünnt, 3 Tage autolysiert
„	31	12. 3. 1925	„	8	Verdünnt, 3 Tage autolisiert, Zimmertemperatur
„	49	4. 5. 1925	„	9	6 Tage autolysiert
„	54	7. 7. 1925	„	16	a) Unverdünnt, b) verdünnt
„	48	28. 4. 1925	„	9	a) Brutschrank, b) Zimmertemperatur
„	46	28. 4. 1925	„	9	3 Tage autolysiert, a) verdünnt, b) unverdünnt
„	47	28. 4. 1925	„	9	a) Verdünnt, b) unverdünnt
H 17	18	6. 2. 1925	Glyzerinkartoffel	8	.
H 34	36	24. 3. 1925	„	9	.
H 42	29	12. 3. 1925	„	8	3 Tage autolysiert
„	56	7. 8. 1925	„	5	.
H 55	60	28. 7. 1925	„	6	.
„	64	8. 9. 1925	„	12	Zimmertemperatur
„	70	31. 10. 1925	„	7	.
„	62	8. 9. 1925	Kondenswasser	12	.
H 64	65	8. 9. 1925	Glyzerinkartoffel	5	.
„	67	8. 9. 1925	„	11	.
M 28	23	28. 2. 1925	„	6	.
„	24	28. 2. 1925	Kondenswasser	6	a) Brutschrank, b) Zimmertemperatur
B 9	4	19. 11. 1924	Glyzerinkartoffel	8	Niederschlag
„	9	13. 12. 1924	„	6	.
„	10	13. 12. 1924	„	6	1 Tag autolysiert
„	14	28. 1. 1925	„	10	.
„	28	7. 3. 1925	„	8	.
„	32	27. 3. 1925	„	7	Zimmertemperatur, 3 Tage autolysiert
„	40	8. 4. 1925	„	4	.
„	5	19. 11. 1924	Kondenswasser	8	.
„	15	28. 1. 1925	„	10	Zimmertemperatur
„	25	7. 3. 1925	„	8	.
„	35	24. 3. 1925	„	7	.
B 59	52	12. 6. 1925	Glyzerinkartoffel	4	.

Tabelle Ia (Fortsetzung).

Stamm	Versuchs-serie	Datum	Art der Kultur	Alter der Kultur (in Wochen)	Anmerkung
B 59	53	12. 6. 1925	Kondenswasser	4	.
„	58	28. 7. 1925	Glyzerinbouillon	8	a) Verdünnt, b) unverdünnt
G 8	2	19. 11. 1924	Glyzerinkartoffel	8	.
„	42	15. 4. 1925	„	10	Zimmertemperatur
„	43	15. 4. 1925	„	10	.
„	44	15. 4. 1925	„	3	.
„	45	15. 4. 1925	„	3	2 Tage autolysiert
„	50	28. 5. 1925	„	10	.
„	59	28. 7. 1925	„	8	1 Tag autolysiert
„	63	8. 9. 1925	„	12	.
„	3	19. 11. 1924	Kondenswasser	8	.
„	51	29. 5. 1925	Eiernährboden	10	.
„	55	7. 7. 1925	„	8	.

Tabelle Ib.
Tuberkelbazillenhältiges Material.

Art des Materiales	Versuchs-serie	Datum	Anmerkung
Verkäste Drüsen eines Meerschweinchens	16	4. 2. 1925	.
Dgl.	19	10. 2. 1925	.
„	22	20. 2. 1925	.
Verkäster Lungenprimärherd eines Meersahweinchens	27	7. 3. 1925	3 Tage autolysiert
Verkäste Drüsen eines Meersshweinchens	38	24. 3. 1926	Dgl.
„ „ „ Kaninchens	57	28. 7. 1925	„
Inhalt einer tuberkulösen Niere (Mörtelniere)	37	24. 3. 1925	„

freier Kartoffelbouillon oder gewöhnlicher Glyzerinbouillon angereichert. Ferner wurde auch die Verimpfung des Filtrates auf Glyzerinkartoffel und endlich auch auf Kartoffel, die statt mit Glyzerin mit Peptonwasser vorbehandelt worden waren, versucht. Das Filtrat kam in den Brutschrank (38°), in einzelnen wenigen Fällen ließen wir es bei Zimmertemperatur. Sämtliche Versuchsserien, die teilweise bis zu einer Dauer von 3 Monaten beobachtet wurden, blieben, von vereinzelten Verunreinigungen mit Luftkeimen abgesehen, steril. In zwei Fällen, bei Versuchsserie 4 [Filtration einer 8 Wochen alten Glyzerinkartoffelkultur von B 9] und bei Versuchsserie 7 [Filtration einer 6 Wochen alten Glyzerinkartoffelkultur von H 13] trat nach 3 Wochen in je einem mit 2proz. Peptonwasser [Pepton „Witte"] angereicherten Filtrate ein trüber, wolkiger Niederschlag am Grunde des Röhrchens auf. Die Flüssigkeit darüber war vollkommen klar. Das mikroskopische Bild dieses Niederschlages, der sich zunächst scheinbar in Serien fortführen ließ, glich zunächst den von Hauduroy und Vaudremer beschriebenen Kulturen. Die Gramfärbung ließ ein spärliches Geflecht von dünnen, kürzeren oder längeren Fäden erkennen, die stellenweise auch isoliert lagen. An diesen Fäden befanden sich kleine Körnchen angelagert, die in unregelmäßigen Abständen voneinander entfernt waren. Die Fäden und der weitaus überwiegende Teil der Körnchen verhielt sich gramnegativ, nur ein kleiner Teil der Granula färbte sich manchmal undeutlich grampositiv. Die Färbung nach Ziehl ließ keine säurefesten Elemente erkennen; Fäden

und Körner färbten sich gut mit Methylenblau. Färbungen auf Much-sche Granula blieben negativ. Kontrollversuche zeigten jedoch sehr bald, daß sich auch in nichtbeimpften Peptonröhrchen, die mehrere Wochen lang im Brutschranke gehalten worden waren, ebenfalls in ziemlich zahlreichen Fällen ein Niederschlag bildete, der ein ziemlich ähnliches Bild bot, nämlich ein Filzwerk von Fäden mit teils spärlich, teils reichlich angelagerten Granula. Wir konnten uns nicht des Eindruckes erwehren, daß es sich dabei um ausgefälltes Pepton handle und daß daher die oben beschriebenen Niederschläge gleichfalls auf Eiweißausfällungen zurückzuführen seien. Es wurde daher von nun an nur mehr Pepton „Roche" verwendet, das wir sorgfältigst lösten. Wir konnten nunmehr tatsächlich in keinem Falle mehr, weder bei den beimpften Röhrchen noch bei den Kontrollröhrchen irgendeinen Niederschlag beobachten. Zur vollständigen Gewißheit impften wir mit den Niederschlägen, die ja doch eventuell auch auf Lebewesen zurückgeführt werden könnten, je 2 Versuchstiere. Die Tiere blieben, wie zu erwarten war, vollständig frei von tuberkulösen Veränderungen.

Die Mitteilungen Vaudremers über die Pathogenität seiner aus Filtraten typischer Tuberkelbazillen gezüchteten Kulturen sind sehr allgemein gehalten. Bei einzelnen Meerschweinchen kommt es angeblich zu einer allgemeinen Drüsenschwellung, einige Drüsen verkäsen und aus dem Käse soll es dann gelingen, säurefeste Granula zu züchten. Durch intravenöse Injektion dieser Kulturen entstehen manchmal beim Meerschweinchen Gelenkserkrankungen, die an die Poncetsche Krankheit erinnern. Etwas genauer sind die Mitteilungen von Durand und Vaudremer über ihre Versuche mit tuberkelbazillenhältigem Material. Sie filtrierten Eiter aus einem kalten Abszesse und injizierten je 5 ccm des Filtrates 2 Meerschweinchen in 5 Dosen zu 1 ccm subkutan. Bei dem einen Tiere trat nach ungefähr 3 Monaten eine eitrige Hodenentzündung auf. In dem Eiter fanden sich typische Tuberkelbazillen, die im Tierversuch sichere tuberkulöse Veränderungen erzeugten. Bei einer Wiederholung des Versuches gelang es Durand abermals, bei 2 Meerschweinchen durch Injektion eines Filtrates, das von einem tuberkelbazillenhältigem Materiale stammte, Tuberkulose zu erzeugen. Das eine dieser beiden Tiere ging 4 Monate nach der Impfung (6 intraperitoneale Injektionen) zugrunde. Die Obduktion ergab abermals eine eitrige Orchitis, ferner miliare Knötchen in Leber, Lunge und Milz und eine allgemeine Drüsentuberkulose. Bei dem andern Tier bestand zur Zeit der Publikation ein typisches Impfinfiltrat der Bauchdecke mit Tuberkelbazillenbefund. Valtis filtrierte dagegen zunächst 1—2 Monate alte Glyzerinbouillonkulturen. Die Filtrate blieben stets steril. Subkutane Impfung sehr großer Mengen dieser Filtrate (10 ccm) riefen bei 2 Meerschweinchen nach 3 resp. 5 Monaten pneumonische Veränderungen der Lungen mit Tuberkelbazillenbefund hervor. Die Tracheobronchialdrüsen waren vergrößert. Ein Impfinfiltrat war nicht nachzuweisen. (Spontane aerogene Infektion?) In seinen Versuchen mit Filtraten tuberkelbazillenhältigen Eiters oder Sputums gelang es ihm ebenfalls, bei einigen wenigen Tieren ein gleiches Krankheitsbild zu erzeugen. Valtis gibt selbst zu, daß ein solcher Befund einer aerogenen Infektion ähnlich sei, behauptet aber dennoch, durch die Impfung mit den von Vaudremer beschriebenen filtrierbaren Formen diese Tuberkulose hervorgerufen zu haben.

Alle diese Mitteilungen erscheinen uns nicht besonders glaub-

Tabelle II.
Tierversuche.

Stamm	Tier	Art der Impfung	Getötet n. Woch.	Anmerkung
H 12	Meerschw. 35	1 ccm Filtrat subkutan	16	negativ
„	„ 52	3 ccm Filtrat subkutan, 2 ccm Filtrat intraperitoneal	12	„
H 13	„ 8	0,5 ccm Filtrat intraperitoneal	22	„
„	„ 9	0,5 ccm Filtrat subkutan	† 10	Subkut. Tuberkulinreakt. pos. Allgem. Drüsentuberk. Tuberkul. d. Lungen
„	„ 22	0,5 ccm Niederschlag vom Filtrat Nr. 7 subkutan	20	negativ
„	„ 24	0,5 ccm Niederschlag vom Filtrat Nr. 7 intraperitoneal	20	„
„	„ 38	10 ccm Filtrat. 2 Injektionen subkutan zu 5 ccm innerhalb 2 Wochen	27	„
„	„ 45	5 ccm Filtrat subkutan	15	„
„	„ 46	14 ccm Filtrat. 5 Injektionen zu 2—3 ccm subkutan und intraperitoneal innerhalb 2 Wochen	15	„
„	„ 36	2 ccm Filtrat (1 Woche alt) subkutan. Konjunktivale Impfung	10	„
H 42	„ 23	0,5 ccm Filtrat (4 Wochen alt) intraperitoneal	20	„
„	„ 37	3 ccm Filtrat subkutan	12	„
H 55	„ 34	1 ccm Filtrat (2 Wochen alt) subkutan Konjunktivale Impfung	12	„
„	„ 53	10 ccm Filtrat. 5 Injektionen subkutan zu 2 ccm innerhalb 2 Wochen	12	„
„	„ 54	2 ccm Filtrat (1 Woche alt) subkutan, 3 ccm Filtrat (1 Woche alt) intraperitoneal	12	„
M 28	„ 31	1 ccm Filtrat subkutan	20	„
„	„ 32	1 ccm Filtrat intraperitoneal	20	„
B 9	„ 16	0,5 ccm Filtrat subkutan, 0,5 ccm Filtrat intraperitoneal	20	„
„	„ 17	0,5 ccm Niederschlag vom Filtrat Nr. 4 subkutan	20	„
„	Kaninch. 19	1 ccm Filtrat intraperitoneal, $2^1/_2$ ccm Filtrat intravenös nach 6 Wochen	14	„
„	„ 20	1 ccm Niederschlag vom Filtrat Nr. 4 subkutan	18	„
„	„ 21	1 ccm Filtrat (2 Wochen alt) subkutan. 1 ccm Filtrat (2 Wochen alt) intravenös	† 2	Blande Thrombophlebitis der l. V. jugul. Kokkidiosis der Leber
„	„ 39	10 ccm Filtrat. 5 Injektionen zu 2 ccm subkutan und intraperitoneal innerhalb 2 Wochen	12	negativ

Tabelle II (Fortsetzung).

Stamm	Tier	Art der Impfung	Getötet n. Woch.	Anmerkung
B 59	Kaninch. 50	2 ccm Filtrat subkutan, 2 ccm Filtrat intraperitoneal	14	negativ
Filtrat verkäster Drüsen eines tuberkulös. Meerschweinchens	Meerschw. 27	1 ccm Filtrat subkutan, 1 ccm Filtrat intraperitoneal	20	„
Filtrat verkäster Drüsen eines tuberkulös. Kaninchens	„ 51	9 ccm Filtrat. 3 Injektionen zu 3 ccm sukutan innerhalb 2 Woch.	16	„

Tabelle III.
Virulenzprüfung.

Stamm	Gezüchtet aus	Verfahren	Tier	Art der Impfung	Eingegangen nach	Obduktionsbefund
H 13	Sputum	15 % H_2SO_4	Ms 5	0,5 ccm subkut.	14 Woch.	Impfinfiltrat. Indurative Tbc. der Leber, Milz, Lungen. Verkäsende Drüsentbc.
„	.	.	„ 6	0,5 „ intrap.	8 „	Verkäsendes Infiltrat der Bauchdecke. Verkäsende Drüsentbc. Indurative Tbc. der Lunge
H 12	Sputum	15 % HCl	„ 7	0,5 „ subkut.	5 „	Kleines, verkäsendes Infiltrat der Bauchdecke. Peritonealtbc. Kachexie
„	.	.	„ 18	0,2 „ „	8 „	Verkäsendes Infiltrat. Indurative Tbc. der Leber und Lunge. Verkäsende Tbc. des Pennis und Skrotums
H 42	Sputum	15 % H_2SO_4	„ 48	1,0 „ „	7 „	Ulcerierendes Infiltrat. Verkäsende Drüsentbc. Indurative Tbc. d Lunge, Leber, Milz
H 55	Tuberkul. Meerschweinchen	—	„ 56	0,2 „ „	7 „	Infiltrat. Hyaline Knötchen in der Lunge. Verkäsende Tbc. der Milz
M 28	Spontane Meerschweinchentbc.	15 % H_2SO_4	„ 15	1,0 „ „	7 „	Ulzerierendes Infiltrat. Hyaline Knötchen in Leber und Milz
B 9	.	.	„ 10	0,5 „ „	12 „ getötet	Negativ
.	.	.	K 18	1,0 „ „	12 Woch.	Verkäsendes Infiltrat. Verkäsende Hilusdrüsen. Indurative Tbc. der Leber, Milz
B 59	.	.	K 49a	2,0 „ „	13 „ getötet	Spärliche Knötchen in der Milz. Kachexie. Infiltrat

würdig. Abgesehen davon, daß histologische Untersuchungen vollständig fehlen, erscheint uns die Zahl der bisherigen Beobachtungen viel

zu gering, als daß daraus bindende Schlüsse gezogen werden dürften, Insbesonders bei den von Valtis mitgeteilten Fällen dürfte es sich doch um spontane Infektion handeln, wenn auch der Autor betont, eine solche ausschließen zu können. Uebrigens liegt es ja immer im Bereich der Möglichkeit, daß Splitter von Tuberkelbazillen (Spengler) ein oder das andere Mal einen Filter passieren und tuberkulöse Veränderungen hervorrufen können. Es wäre demnach nicht notwendig als Erkrankung dafür das Vorhandensein von so merkwürdigen, atypischen Formen heranzuziehen, die von den normalen Formen so sehr abweichen und die sich, wie Vaudremer und seine Mitarbeiter annehmen, im Tierkörper wieder in gewöhnliche, säurefeste Stäbchen zurückverwandeln können.

Unsere Impfversuche mit Filtraten von Tuberkelbazillenkulturen wurden an 24, mit Filtraten von tuberkelbazillenhältigem Materiale an 2 Tieren vorgenommen (Tab. II). 17 Meerschweinchen wurden mit den Filtraten von 5 verschiedenen Stämmen des Typus humanus, 2 Meerschweinchen und 5 Kaninchen mit den Filtraten der beiden Stämme des Typus bovinus geimpft. Von diesen Tieren wurden 3 Meerschweinchen und 1 Kaninchen mit den oben erwähnten Niederschlägen von Versuchsserie 4 und 7 geimpft. Die Virulenz aller zur Verwendung gekommenen Stämme wurde vorher im Tierversuche festgestellt (Tab. III). Die Tiere wurden teils subkutan, teils intraperitoneal geimpft. Bei einigen Tieren versuchten wir auch die intrapulmonale und conjunktivale, bei einigen Kaninchen auch die intravenöse Infektion. Sämtliche Versuche ergaben ein negatives Ergebnis. Die Tiere vertrugen die Injektion selbst großer Mengen der Filtrate ausnahmslos gut. Vorübergehende Vergrößerungen der Lymphdrüsen konnten wir nie beobachten. Zwei der Tiere, 1 Meerschweinchen und 1 Kaninchen, gingen spontan ein. Die übrigen Tiere wurden nach einer Beobachtungsdauer von 10—22 Wochen getötet. Die Obduktion war in allen diesen Fällen negativ; an den Organen ließen sich weder makroskopisch noch mikroskopisch tuberkulöse Veränderungen nachweisen. Die von Zeit zu Zeit durchgeführten Allergieprüfungen durch intra- oder subkutane Tuberkulininjektionen (nach Eber) gaben stets einen negativen Befund. Dem spontan eingegangenen Kaninchen (Kan. 21) wurde je 1 ccm eines Filtrates von Stamm B 9 subkutan und intravenös injiziert. Nach 2 Wochen ging das Tier ein. Die Obduktion ergab Kokkidiosis der Leber und eine blande Thrombophlebitis der l. Vena jugularis, die höchstwahrscheinlich von der Ohrvene, die zur Injektion verwendet worden war, ihren Ausgang genommen hatte. Das eingegangene Meerschweinchen (Ms 9) ist mit 0,5 ccm eines Filtrates von Stamm H 13 subkutan geimpft worden. Gleichzeitig wurde ein anderes Tier (Ms 8) mit der gleichen Menge dieses Filtrates intraperitoneal geimpft. Während dieses Meerschweinchen ständig an Gewicht zunahm, stets negative Allergie aufwies und, als es nach 22 Wochen getötet wurde, negativen Obduktionsbefund ergab, trat bei dem Meerschweinchen 9 nach einer anfänglichen Gewichtszunahme ein plötzlicher Gewichtssturz ein. Ungefähr 10 Wochen nach der Impfung ergab eine intrakutane Tuberkulinprüfung ein schwach positives Resultat; wenige Tage später ging das Tier im Anschluß an eine positiv verlaufende subkutane Tuberkulinprüfung zugrunde. Bei der Obduktion fand sich eine allgemeine, zum Teil verkäsende, größtenteils indurierende Tuberkulose sämtlicher Lymphdrüsen, insbesondere der tracheobronchialen Drüsen, ferner fibröse, tu-

berkulöse Herde in beiden Lungen, die übrigen Organe waren frei. Ein Impfschanker der Bauchdecken ließ sich nicht nachweisen. Aus den verkästen Drüsen wurde ein Stamm gezüchtet (M 28), der sich kulturell und im Tierversuch wie ein Stamm vom Typus humanus verhielt. In diesem Falle handelte es sich, dem Obduktionsbefunde entsprechend (kein Impfinfiltrat, Tuberkulose der Lunge und der tracheobronchialen Drüsen) um einen Fall von spontaner, aerogener Infektion, die zwar beim Meerschweinchen sehr selten vorkommt, deren Möglichkeit aber durch zahlreiche Versuche bewiesen ist. Wir wurden übrigens in dieser Ansicht noch dadurch bestärkt, daß wir kurze Zeit später in derselben Zucht, aus der dieses Meerschweinchen stammte, zwei weitere, einwandfreie Fälle von Spontaninfektion bei nicht vorbehandelten Tieren feststellen konnten. Zu den weiteren Versuchen wurden dann Tiere aus einer reinen, frischen Zucht verwendet, von der wir annehmen konnten daß sie unverseucht sei. Es blieben dann auch alle anderen Versuchstiere frei von tuberkulösen Veränderungen.

Zusammenfassung.

Unsere Versuche, aus den Filtraten typischer Tuberkelbazillenkulturen oder aus tuberkelbazillenhältigem Material die von Vaudremer beschriebenen atypischen Formen zu züchten, ergaben ein negatives Resultat. Ebensowenig gelang es uns, durch solche Filtrate im Tierkörper tuberkulöse Veränderungen hervorzurufen. Auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse können wir daher die Angaben Vaudremers und seiner Mitarbeiter über das Vorhandensein filtrierbarer Elemente des Tuberkelbazillus und über die Möglichkeit, aus diesen Elementen bisher unbekannte, pilzähnliche Formen des Kochschen Bazillus zu züchten, die sich im Tierkörper wieder in typische, säurefeste Stäbchen zurückverwandeln sollen, nicht bestätigen. Es muß dahin gestellt bleiben, ob die von Vaudremer beschriebenen Gebilde tatsächlich Mikroorganismen entsprechen, oder ob sie vielleicht auf Eiweißausfällungen oder dergl. zurückzuführen seien. Wie die in der französischen Literatur mitgeteilten positiven Impfversuche zu erklären sind, müssen wir vorläufig ebenfalls dahingestellt lassen.

Literatur.

Besançon, F., Philibert, A., et Haudurvy, P., Sur la structure des voiles jeunes des cultures de bacilles tuberculeux. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 90. 1924. — Durand, H., Pouvoir pathogene du bacille tuberculeux filtré. (Ibid. T. 91. 1924.) — Ders. et Vaudremer, A., Retour au type classique du bacille tuberculeux filtré, après passage par le péritoine du cobaye. (Ibid. T. 90. 1924.) — Dostal, H., Zur Stellung des Tuberkelbazillus im System der Mikroorganismen. (Wien. med. Wochenschr. 1913. Nr. 15.) — Dostal, H., und Ender, F., Zur Differenzierung säurefester Bakterien. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. Nr. 27.) — Eber, A., Technik der Tuberlinreaktion bei Tieren (In Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmethoden. Bd. 13.) — Ferran, J., Sur l'obtention de la tuberculose inflammatoire, de tubercules et de bacilles acido-résistants de Koch, au moyen de l'inoculation de bactéries non acido-résistantes, de culture facile et complètement atoxiques. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 72. 1912; zitiert nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 55. 1912.) — Fontes, A., Studien über Tuberkulose. (Memorias do Instit. Oswaldo Cruz. T. 2. 1910; zitiert nach Centralbl. f. Bakt. Bd. 51 1912.) — Gessard, C., et Vaudremer, A., Divers modes de culture du bacille tuberculeux. (Compt. rend Soc. de Biol. T. 87. 1922.) — Dies., Recherches sur la culture du bacille tuberculeux. (Ibid. T. 90. 1924.) — Haudurvy, P., et Vaudremer, A.,

Recherches sur les formes filtrables du bacille tuberculeux (Ibid. T. 89. 1923.) — Kumbavi, S., Eine Wachstumsform des Tuberkelbazillus und ihr Zusammenhang mit der Immunität bei Tbc. (Gigiena i Sanitarija. 1910. Nr. 1; zitiert nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. 1911.) — Loewenstein E., Beitrag zur Leistungsfähigkeit der direkten Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem infektiösen Materiale. Mit einem Beitrag zur Geflügeltbc. im Menschen. (Wien. klin. Wochenschr. 1924. H. 10.) — Peju et Rajat, Morphologie du bacille de la tuberculose humaine dans les milieux salins. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 63. 1907; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 42. 1907.) — Valtis, J., Formes filtrables dans les cultures du bacille tuberculeux (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 90. 1924.) — Ders., Sur la filtration à travers la bougie Chamberland L_2 du bacille de Koch provenant d'un pus tuberleux. (Ibid. T. 90. 1924.) — Ders., Sur la filtrabilité du bacille tuberleux á travers les bougies Chamberland. (Ann. d. l'Instit. Pasteur. T. 38. 1924.) — Vaudremer, A., Formes filtrantes des bacilles tuberculeux. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 99. 1923.) — Ders., Le bacille de la tuberculose (Sclerothrix Kochii). (Paris. méd. 1924. Nr. 1.)

Nachtrag. Während vorliegende Arbeit im Druck war, fanden wir in der Literatur noch folgende Mitteilungen. Durand und Charchanski impften ein Meerschweinchen subkutan mit 1 ccm Filtrat eines tuberkulösen Pleuraexsudates. Als sie nach 3 Wochen das Tier töteten, konnten sie eine Lymphadenitis mit angeblich positivem Tuberkelbazillenbefund konstatieren. Vannucci bestätigt die Angaben von Valtis. Durch Impfung mit Filtraten von tuberkulösem Eiter konnte er bei 3 Meerschweinchen echte Tuberkelbazillen erzeugen. Montemartini dagegen lehnt auf Grund seiner umfangreichen, an 86 Meerschweinchen durchgeführten Nachuntersuchungen die Befunde von Valtis und Vannucci ab. Es gelang ihm weder mit den Filtraten von tuberkelbazillenhältigem Eiter noch von tuberkulösem Sputum Tuberkulose zu erzeugen. Das Entstehen kleiner nekrotischer Herde im subkutanen Gewebe, in Drüsen und Milz dürfte seiner Meinung nach auf die Wirkung der Giftprodukte der Tuberkelbazillen zurückzuführen sein.

Literatur.

Durand, H., et Charchanski, Tuberculose expérimentale après inoculation de filtrats tuberculeux. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 93. 1925; zitiert nach Centralbl. f. Bakt. Bd. 81. 1926.) — Montemartini, G., Caratteri morfologici culturali del bacillo di Koch ed asserita filtrabilità del virus tubercolare. (Boll. Instit. sieroterap. Milano 1925; zitiert nach Centralbl. f. Bakt. Bd. 80. 1925.) — Vannueci, D., Sulle proprieta infettanti dei filtrati di prodotti tubercolaire. Ricerche sperimentali. (Sperimentale. 78. 1924; zitiert nach Centralbl. f. d. g. Tuberkuloseforschung. Bd. 23. 1925.)

Ueber das Vorkommen von Scharlachstreptokokken in der Luft.

[Aus dem hauptstädt. Hygienisch-bakteriolog. Institut in Budapest.]

Von Professor Dr. **Bernhard Vas.**

Die Unzulänglichkeit unserer Maßnahmen gegen den Scharlach ist wohl letzten Endes auf die bisherige Unkenntnis seines Erregers zurückzuführen. Sollten sich nun die neuesten Forschungsergebnisse der Amerikaner bestätigen, so könnte unser Kampf gegen diese heimtückische Krankheit gewiß mit größerem Erfolg wie bisher durchgeführt werden.

Nach diesen neuesten Untersuchungen wäre der aus den Rachenorganen Scharlachkranker und aus dem Blute an Scharlach Verstorbener gezüchtete Streptococcus haemolyticus der eigentliche Erreger. Es ist ja bekannt, daß der Verdacht schon von jeher sich auf diese Bakterien richtete, doch fehlten für eine derartige Annahme bisher zwingende Beweise. Diese scheinen nun in der Tat vorzuliegen. Hierfür sprechen einerseits die Versuchsergebnisse des Ehepaares Dick (1) in Chikago, dem es gelungen ist, durch Einpinselung von 24stünd. Scharlachstreptokokkenkulturen bei gesunden jungen Leuten in einigen Fällen typischen Scharlach experimentell zu erzeugen, andererseits die serologischen Befunde von Dochez und anderen, die mittels des durch Immunisierung mit Streptococcus haemolyticus gewonnenen Serums ausschließlich nur Scharlachstreptokokken agglutinieren konnten, während Streptokokkusstämme anderen Ursprunges nicht beeinflußt wurden.

Demnach scheinen für den Scharlachstreptokokkus die von Robert Koch für einen Krankheitserreger geforderten Bedingungen erfüllt zu sein.

Unter diesen Umständen dürfte folgender Befund, der sich auf das Vorkommen von Scharlachstreptokokken in der Luft bezieht, gewisses Interesse erwecken.

Mit Untersuchungen über den Bakteriengehalt der freien Luft beschäftigt, wurden diese vor kurzem auch auf die Luft verschiedener Räumlichkeiten in Schulen, Krankenhäusern, Waisenhäusern, Internaten etc. ausgedehnt.

Unter dem Einflusse der amerikanischen Scharlachforschungen war es naheliegend, auch auf das Vorhandensein von Streptokokken zu fahnden.

Zu diesem Zwecke wurden vorerst in den Krankensälen der Scharlachabteilung des St. Ladislaus-Spitals Blutagarplatten in Petri-Schalen zu verschiedenen Tageszeiten 10—20 Min. lang exponiert. Die Schalen wurden teils nahe dem Fußboden, teils in einer Höhe von 1—2 m gehalten. Als Kontrollen dienten Untersuchungen, die auf dieselbe Weise in den übrigen Abteilungen desselben Spitals sowie in mit nicht infektiösen Kranken belegten Sälen des St. Stefan-Spitals ausgeführt wurden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren recht überraschend. Während nämlich in der Scharlachabteilung fast bei jeder Gelegenheit die charakteristischen Kulturen von Streptococcus haemolyticus auf den Platten aufgingen, war das Resultat der zahlreichen Kontrolluntersuchungen sowohl in der Diphtherie- und Typhusabteilung als auch in den verschiedenen Krankensälen für nicht Infektionskranke durchgehends negativ.

Bemerkt sei noch, daß die positiven Befunde zu den verschiedensten Zeiten erhoben wurden, sowohl vor wie nach der Lüftung der Räumlichkeiten, als auch vor und nach dem Fegen des Fußbodens.

Die Menge der gefundenen Streptokokken wurde nicht genau ermittelt, doch schien es, daß sie in den Sälen mit fiebernden Kranken, also im 1. Stadium des Scharlachs, größer war, als bei den Rekonvaleszenten, die bis zu ihrer definitiven Entlassung aus dem Krankenhause in separaten Sälen gehalten wurden.

Im Laufe der Untersuchungen wurden während ganz kurzer Zeit 15 Stämme gezüchtet, welche alle die gleichen morphologischen und

kulturellen Eigenschaften besaßen. Auf den Originalplatten entwickelten sich nach 24 Std. dunkle Kolonien von Stecknadelkopfgröße, umgeben von einem kleinen hellen Hof, der auch nach 48 Std. kaum größer wurde. In Lingelsheim-Bouillon üppiges Wachstum, auf schrägem Blutagar ganz dünner, gleichmäßiger Belag. Im gefärbten Präparate Ketten von 15—20 grampositiven Gliedern. Alle Eigenschaften der gefundenen Streptokokken entsprachen vollkommen dem uns von der National Collection of Type cultures in London gütigst überlassenen, als „Scarletfever" bezeichneten Stamme.

Unsere Stämme zeigten hohe Virulenz. 0,5 ccm einer 24stünd. Bouillonkultur in einer Verdünnung von 1:10 weißen Mäusen intraperitoneal injiziert, töteten diese innerhalb 24—36 Std. Aus dem Herzblut konnten jedesmal die Streptokokken in Reinkultur gezüchtet werden.

Da der Streptokokkus im allgemeinen in der Natur sehr verbreitet ist und nach Zlatogoroff (3) auch der hämolytische bei den verschiedensten Krankheiten und auch bei gesunden Menschen vorkommen, kann, schien es uns von Wichtigkeit, die gefundenen Luftkeime auf ihre Provenienz hin weiter zu untersuchen, um so mehr, als wir in der uns zugänglichen Literatur keine Angaben über das Vorkommen des Streptococcus haemolyticus in der Luft finden konnten.

Wenn nun auch Zlatogoroff sogar die Fähigkeit des Streptococcus haemolyticus, toxische Produkte zu liefern, nicht als eine solche anerkennt, welche ausschließlich dem Scharlachstreptokokkus zukommt, so glaubten wir dennoch, die übrigens kaum zweifelhafte Herkunft unserer Luftstreptokokken von den in den Sälen befindlichen Scharlachkranken auch hinsichtlich ihrer toxinbildenden Eigenschaft zu prüfen, da nach den Erfahrungen von Friedemann und Deichert (4) zwischen den Toxinen von gewöhnlichen und solchen von Scharlachstreptokokken Unterschiede bestehen, indem erstere bloß in stärkeren Konzentrationen bei intrakutaner Impfung die charakteristische Hautreaktion nach Dick ergeben, während diese mit von Scharlachstreptokokken gebildeten Toxinen gewöhnlich schon in einer Verdünnung von 1:500—1:1000 gelingt.

Die Hauteinheit der bei unseren, in großem Umfange an Kindern ausgeführten Untersuchungen verwendeten und durch die Liebenswürdigkeit von Prof. Aldershoff in Utrecht uns überlassenen Toxins betrug 0,2 ccm in einer Verdünnung von 1:500. Mit unserem aus den Luftstreptokokken gebildeten Toxin konnten wir jedesmal dieselben Hautreaktionen wie mit dem Utrechter Toxin, und zwar schon in einer Verdünnung von 1:1000 mit einer Menge von 0,1—0,2 ccm, erhalten.

Im allgemeinen waren die Hautreaktionen, die durch von Luftstreptokokken stammende Toxine hervorgerufen wurden, immer von einer auffallenden Uebereinstimmung mit dem Utrechter Toxin, so daß die Identität der Luftstreptokokken mit den Scharlachstreptokokken schon auf Grund dieser Eigenschaft angenommen werden konnte. Dennoch wollten wir durch Neutralisierungsversuche diese Annahme noch bestärken. Zu diesem Zwecke wurde unser Luftstreptokokkus-Toxin in einer Verdünnung von 1:500 mit 1 ccm Scharlachrekonvaleszentenserum versetzt, das Gemisch 1 Std. im Thermostat gelassen und hierauf die Dicksche Probe angestellt. Zur Kontrolle injizierten wir denselben Individuen noch das Toxin allein, außerdem das Utrechter Toxin. In den zu wiederholten Malen angestellten Versuchen blieben die mit dem

Scharlachserum angestellten Proben immer negativ, während die Kontrollen prompt positiv ausfielen.

Auf Grund dieser Versuche sind wir wohl berechtigt, die aus der Luft isolierten Streptokokkusstämme als von Scharlachkranken stammend zu betrachten und ihre Identität mit den Scharlachstreptokokken für bewiesen zu halten, so daß wir von den Agglutinationsversuchen, die dazu noch mit großen technischen Schwierigkeiten verbunden sind, absehen zu können glaubten.

Die von den Scharlachkranken stammenden Streptokokken dürften durch Husten, Niesen, Räuspern, eventuell durch feinste keimhaltige Tröpfchen in die Luft geschleudert werden, andererseits sind auch die Bedingungen gegeben, daß trockene kleinste Teile des Kontagiums von der Haut abgestoßen werden. Auf ersterem Wege wird bekanntlich seit den Versuchen von Flügge (5) die Verbreitung der Tuberkulose angenommen; ob aber diese Art die wichtigste aërogene Ansteckungsform bildet, ist bisher noch nicht sicher erwiesen, denn auch der Verbreitung der Tuberkulose durch Einatmung von verstäubtem bazillenhaltigen Auswurf, eine Annahme, die noch von R. Koch stammt, wird nach neueren Untersuchungen von Lange und Keschischian (6) wieder eine erhöhte Wichtigkeit beigemessen. Für die Bedeutung der Luftinfektion beim Scharlach liegen noch wenige Daten vor, doch wird eine derartige Möglichkeit unter anderem auch von Jochmann (7) angenommen. Im allgemeinen wird aber der Luft bei der Verbreitung von Infektionskrankheiten, insbesondere beim Scharlach, nur eine sehr untergeordnete Rolle zugeschrieben.

Sollte sich nun bei weiteren Forschungen die Erregernatur der Scharlachstreptokokken, wie dies von Dick und den Amerikanern angenommen und seinerzeit auch von Gabritschewsky (8) auf Grund des bei den Impfungen mit seiner Vakzine beobachteten Scharlachsymptomenkomplex vermutet wurde, bestätigen, so müßten auch unsere Ansichten bezüglich der Vermittlerrolle der Luft bei der Verbreitung des Scharlachs einer Revision unterzogen und bei unserem Verfahren in der Bekämpfung dieser Krankheiten ernstlich in Erwägung gezogen werden.

Literatur.

1) Dick, G., a. Dick, G. H., Journ. Med. Soc. 1925. Nr. 30. — 2) Dochez, Journ. of Amer. med. Assoc. Vol. 82. 1924. — 3) Zlatogoroff, Seuchenbekämpfung. Jhrg. 4. Nr. 6. — 4) Friedemann u. Deichert, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 46 u. 47. — 5) Flügge, Ztschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. — 6) Lange u. Keschischian, Ibid. Bd. 104. 1925. — 7) Jochmann, Lehrbuch f. Infektionskrankheiten. 1914. — 8) Gabritschewsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 41. 1906.

Ueber Allgemeininfektion bei Gonorrhöe mit zwei klinisch und autoptisch beobachteten Fällen.

[Aus dem Pathologischen Institut des allgemeinen Krankenhauses Barmbeck-Hamburg (Prosektor: Dr. Gerlach).]

Von Dr. med. **Werner Haase,**
Vol.-Assistent des Instituts.

Am 21. 12. 1925 kam bei uns die Leiche eines 14jährigen Mädchens M. M. unter der Diagnose: Miliartuberkulose und Amyloidose zur Sektion. Diese deckte jedoch eine chronische Gonokokkensepsis auf. Der Fall scheint uns in klinischer, pathologischer und bakteriologischer Hinsicht ein besonderes Interesse zu beanspruchen.

Aus der Krankengeschichte (N. 12872/1925), die wir der Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. Reiche verdanken, entnehmen wir in extenso:

Mutter lungenleidend, Vater und 6 Geschwister gesund. Angeblich mit 3 und 6 Jahren Scharlach. Mit dem 6. Lebensjahr war das Mädchen als Zögling eines Waisenhauses 1/4 Jahr lang in Behandlung der Dermatologischen Abteilung des Krankenhauses Barmbeck (Prof. Hahn). Nach dem Krankenblatt (11164/1917 D.I.6) litt sie an einer gonorrhoischen Vulvovaginitis und wurde mit negativem Urethral- und Vaginalabstrich entlassen. Seit dem 7. Lebensjahr ist sie schwächlich und kränklich, war oft zur Erholung fortgeschickt. Seit Frühjahr 1924 in Arbeit bei einem Bauer. Seit Anfang November 1924 bestehen Appetitlosigkeit, Schmerzen in der Magengegend, Kopfschmerzen, allgemeine Mattigkeit und Fieber bis zu 38°. Trotzdem mußte das Mädchen zunächst weiterarbeiten und kam erst am 4. 12. 1924 zur Aufnahme ins Krankenhaus. Pat. ist jetzt 14 Jahre alt.

Aus dem Aufnahmebefund: Kleine, schwächliche, unterentwickelte Pat. in reduziertem Ernährungszustand. Blasse Gesichtsfarbe. Schleimhäute schlecht durchblutet. Fieberzunge. Rachen gerötet. Tonsillen vergrößert und zerklüftet.

Lungen: Heller Klopfschall. Gut verschiebliche Grenzen. Pueriles Atmen. Keine Rhonchi.

Herz: Schmal. Töne rein.

Abdomen: Gespannt. Die Oberbauchgegend in toto druckschmerzhaft. Milz 2 Querfingerbreit unter dem Rippenbogen palpabel und schmerzhaft.

Genitale: Bis auf gelblichen Fluor sonst keine Besonderheiten.

Temperatur 38,2°. Puls 100. Blutdruck 80/40.

Gewicht 33,2 kg (bei 1,48 m Körpergröße).

Harn ohne Besonderheiten. Stuhl in Ordnung.

Blutbild: Hgb. 45 Proz. Erythroz. 3,62 Mill. Leukoz. 7000. Poly. 85 Proz. Lymph. 13 Proz. Uebg. 2 Proz.

Im Urethralabstrich: Gonokokken + + +

Nach der Röntgenuntersuchung muß eine Pleuraschwarte oder eine Adhäsion rechts unten angenommen werden. Am lk. Hilus ein älterer Herd.

Im folgenden bringen wir im Auszug das Wichtigste aus der Krankengeschichte und Kurve.

Pat. erhält roborierende Kost, Sirolin und Pyramidon. Bei morgendlichen Remissionen bis auf 37° herunter weist die Fieberkurve in den nächsten Tagen und Wochen täglich abends Zacken bis auf 40° auf.

8. 12. 1924. Leukoz. im Harn vermehrt.

11. 12. 1924. Blutleukozytose von 10000 bei einem Verhältnis von 78/22 der Poly. zu den Lymph.

12. 12. 1924. Gonokokken im Abstrich.

17. 12. 1924. Augenhintergrund o. B.

25. 12. 1924. In der r. Axillarlinie pleuritisches Reiben hörbar. Keine Dämpfung.

28. 12. 1924. Wiederholtes Erbrechen. Zeitweise wurde Pantopon gegeben.

30. 12. 1924. Leukozytengesamtzahl 7200.
31. 12. 1924. Die morgendlichen Remissionen kommen selten bis auf 38° herunter.
5. 1. 1925. Leukoz. 9400. Stab. 14 Proz. Segm. 70 Proz. Lymph. 15 Proz. Uebg. 1 Proz. Stuhl in letzter Zeit alle 2—3 Tage.
12. 1. 1925. Blutbild fast unverändert: 1 Proz. Eosinoph.
6. 2. 1925. Probepunktion r. h.-u. negativ.
26. 2. 1925. Milz als großer runder Tumor handbreit unter dem Rippenbogen palpabel. Leukoz. 9800. Stab. 14 Proz. Segment. 55 Proz. Lymph. 29 Proz. Mono 2 Proz.
19. 3. 1925. Leibschmerzen verstärkt. Bauchdeckenspannung. Druckschmerz.
1. 4. 1925. Langsamer stetiger Gewichtsabfall. Jetzt 27,0 kg.
15. 4. 1925. Temperaturen etwas ruhiger.
20. 5. 1925 Dauernde Schmerzen. Ueber der r. Lunge vereinzelt pleuritisches Reiben hörbar. Leber 1 Querfingerbreit unter dem Rippenbogen fühlbar.
13. 6. 1925. Leukoz. 11000. Stab. 11 Proz. Segm. 60 Proz. Lymph. 26 Proz. Eo. 2 Proz. Uebg. 1 Proz.
2. 7. 1925. Temperaturen ruhig, in normalen Grenzen.
18. 7. 1925. Erbrechen. Wieder remittierendes Fieber. 40,2—36,4°.
28. 7. 1925. Wiederholtes Erbrechen. Temperaturen normal bis auf gelegentliche Zacken über 40°.
8. 8. 1925. Harn o. B. Diazo negativ.
18. 8. 1925. Heute wieder 39,4° Fieber.
20. 8. 1925. Temperatur normal.
27. 8. 1925. Temperatur wieder über 40°. Leukoz. 39000 (!) Stab. 27 Proz. Segm. 67 Proz. Lymph. 5 Proz. Uebg. 1 Proz.
29. 8. 1925. Harn: Alb. nach Esbach 1,5 pro Mill. Erneut Temperaturen.
6. 9. 1925. Harn: Alb. +. Leuko. + + +. Erythr. + Epith. + Zylinder? Temperatur dauernd unruhig.
10. 9. 1925. Zunehmender Verfall. Dekubitus. Oedeme der Beine durch Thrombose der Leistenvenen.
16. 9. 1925. Leukoz. 18800. Stab. 40 Proz. Segm. 55 Proz. Lymph. 4 Proz. Uebg. 1 Proz.
18. 9. 1925. Unter zunehmender Kachexie erfolgt der Exitus letalis nach einer Beobachtungszeit von 3/4 Jahren.

Die Diagnosestellung war den Klinikern von Anfang an nicht leicht geworden und blieb in differentialdiagnostischen Erwägungen auch bis zuletzt unsicher. Am meisten hat das Krankheitsbild den Eindruck einer schleichenden, mesenterialen, tuberkulösen Peritonitis gemacht, die schließlich zur miliaren Aussaat geführt hat (typhöse Form der Miliartuberkulose).

Für die Diagnose mußten ja zum Teil auch sprechen: die Anamnese, der fehlende Lungenbefund, die Adynamie, die Temperaturen, der Milztumor, die Obstipation, die Leibschmerzen, das Fehlen der Eosinophilen im Blut usw.

Dagegen fehlen zur Annahme einer miliaren Aussaat: meningeale Symptome, Augenbefund, Nachweis eines tuberkulösen Primärherdes, insonderheit ein wesentlicher Befund an den Lungen, die Diazoreaktion, die Lymphozytose im Blut usw.

Unberücksichtigt blieb bei der Diagnosestellung die alte Gonorrhöe und der mehrmalige jetzige Gonokokkenbefund im Urethralausstrich.

48 Std. post mortem fand die Sektion statt (Dr. Haase). Aus dem Protokoll (853/1925) entnehmen wir, indem wir uns nur auf Besonderheiten beschränken:

Leiche eines 1,45 m großen, 26,2 kg schweren, grazilen Mädchens in äußerst reduziertem Ernährungszustand. Gesichtszüge lassen an ein Lebensalter des Individuums von eher 25 als von 14 Jahren denken. Im Gegensatz zum Gesichtsausdruck fehlen Achsel- und Schamhaare fast völlig. Oedem des lk. Beines. Ausgedehnter Dekubitus über dem Os sacrum und beiden Glatäen, auf den lk. Oberschenkel übergreifend. Aeußeres Genitale infantil. Hymen defloratum. Mammae enthalten haselnußgroße Drüsenkörper.

Im Bereich des Schädels finden sich lediglich flächenhafte Blutungen in die weichen Hirnhäute über dem r. Hinterhauptslappen und Stirnhirn. Hirnrinde darunter unverändert.

Brusthöhle: Flächenhafte Verwachsungen im Bereich des r. Unterlappens. Wenig gelblich-klare Flüssigkeit in beiden Pleurahöhlen.

Herz: Schlaffes Tropfenherz. Im Herzbeutel ca. 20 ccm gelblich-klare Flüssigkeit. Mitralis, Pulmonalis und Aortenklappen ganz zart. Dagegen auf der Tricuspidalis (!) gelbe, zum Teil abstreifbare Auflagerungen. Dieselben haben die Klappen deutlich angefressen und durchgefressen. Außerdem hat der Prozeß unter den Klappensegeln auf das Endokard übergegriffen. Hier finden sich oberflächliche, mit gelben Massen bedeckte Defekte mit deutlich hämorrhagischem Hof. Herzfleisch blaß und trübe.

Lungen: Die gesamte Pleura pulmonalis zeigt unregelmäßig verteilt viele stecknadelkopfgroße, hellrote Flecke auf hellgrauem Grunde, die sich als kleinste Blutungen erweisen, von denen einzelne ein zentrales gelbes Pünktchen erkennen lassen. Beide Unterlappen weisen erhöhte Konsistenz auf. Die Schnittfläche ist blaurot, saftreich, aber lufthaltig bis auf einen keilförmigen Herd in der Basis des r. Unterlappens von dunkelschwarzroter Farbe. Oberlappen ideal schwammig. Eine kleine narbige Einziehung im Bereich der lk. Spitze. Ein Kalkherd im lk. Hilus.

Halsorgane: Tonsillen klein, granuliert, ohne Pfröpfe. Kein Thymusrest makroskopisch nachweisbar. Thyreoidea klein.

Bauchhöhle enthält wenig klare Flüssigkeit. Die Milz ragt weit in den Bauch hinein, ist überall schwer lösbar verwachsen. Im Unterbauch schiefrige Verfärbung der Serosa. Flächenhafte Verwachsung von Darmschlingen und Tuben, spangenförmige im Douglas.

Milz: Sehr stark vergrößert (580 g wiegend), von blauroter Farbe, zum Teil mit feinen Auflagerungen bedeckt. Oberfläche unregelmäßig, stellenweise narbig. Die Schnittfläche ist etwas quellend, schmutzig-graurot, ein wenig abstreifbar. Unter den eben beschriebenen Veränderungen der Oberfläche finden sich kleine, eingedickte, gelbe Eiterherde, hier und da auch noch frische Eiteransammlungen.

Magen: Schleimhaut etwas schiefrig und mit Ausnahme des Pylorusteiles von sehr dichtstehenden Blutungen durchsetzt. Auf den Faltenhöhen finden sich eine Reihe feinster dunkelblaurot gefärbter Herde.

Darm o. B.

Leber: 1180 g schwer. An der Oberfläche zahlreiche Adhäsionen und eingezogene Narben. Auf dem Schnitt finden sich, und zwar besonders im lk. Lappen neben größeren Eiterherden mit flüssigem, rahmigem Eiter auch gelblichweiße, schwielige Bezirke, die im Zentrum eine unregelmäßige Fleckung zeigen. Auch in solchen Herden, zum Teil noch im Zentrum, flüssiger Eiter. Im übrigen ist die Leber stark trübe. Das Parenchym quellend, aber locker.

Pankreas: o. B.

Nebennieren: Rinde entfettet.

Nieren: Kapsel gut abziehbar. Die lk. Niere ist bleich und zeigt auf der Schnittfläche streifige Abszesse. Die r. Niere ist stark gerötet, das Parenchym quellend. Auf der Schnittfläche in der Rinde fleckige Rötung und streifige, bis zur Oberfläche reichende, Eiterherde.

Genitale: Hymen nicht erhalten. An der vorderen Muttermundslippe eine kleine Erosion. Uterus sehr klein, von kindlichen Proportionen. Tuben unregelmäßig dick, verwachsen. Aus ihnen ist stellenweise gelber Eiter auspreßbar. Beide Eierstöcke doppelwalnußgroß, unregelmäßig höckrig. Auf der Schnittfläche zahlreiche zystische Hohlräume, in deren Wand sich knochenharte Gebilde finden. Vom Uterus aus ziehen bindegewebige Verwachsungen durch den Douglas nach hinten.

Knochenmark gerötet und quellend.

Im r. Kniegelenk ein eitriger Erguß.

Große Blutgefäße: Thromben in den oberflächlichen und tiefen Beinvenen fortgesetzt bis in die Cava inferior. Im r. Bein sind die Thromben alt und bröckelig, haften fest an und sind zum Teil organisiert und rekanalisiert bis in die Cava hinein, während die Thromben im lk. Bein frischer und dunkelrot sind.

Lymphdrüsen: Ueberall in großer Zahl, verdickt, im Thorax anthrakotisch, sonst glasig und grauweiß auf der Schnittfläche.

Im sofortigen Ausstrich aus den Leberabszessen neben zahlreichen Staphylokokkenhäufchen sehr zahlreiche, typisch intrazellulär gelagerte, gramnegative Diplokokken (Gonokokken). Derselbe Befund im Ausstrich des Eiters aus dem rechten Kniegelenk mit dem Unterschied, daß hier die Gonokokken weit überwiegen.

Mikroskopisch:

Milz: Follikel klein, Pulpa locker, sehr blutreich. Die Narben sind zum Teil sklerotisch, zum Teil noch jünger, im ganzen zahlreich. Hier und da sind alte Abszesse eingeschlossen, in deren Umgebung sich große, helle, blasige Zellen (Pseudoxanthomzellen) mit reichlichem Fettgehalt finden.

Ovarien: Zahlreiche große Zysten mit stark verkalkter Wand und flacher Epithelauskleidung. In der Keimschicht reichliche Prämordialfollikel. An einer Stelle ein altes Corpus haemorrhagicum mit reichlich eisenpigmenthaltigen Zellen.

Nieren: Die r. und lk. zeigen mikroskopisch annähernd dasselbe Bild. Zahlreiche interstitielle Entzündungsherde und Bindegewebsvermehrung im Interstitium. Hochgradige fleckige Hyperämie. Reichlich Zylinderbildung. Harnkanälchenepithelien der Rinde klein, ihre Kerne pyknotisch. Glomeruli überall gut erhalten, keine Kapselwucherungen. Schlingen zum Teil etwas gequollen. Ziemlich reichliche Plasmazellen.

Lymphdrüsen: Chronische Lymphadenitis.

Weiche Hirnhäute: Frische Blutungen. In dem Blut ziemlich reichlich polymorphkernige Leukozyten.

Portio: Hyperämie. Leukozytose der Gefäße. Hier und da auch Leukozytenansammlungen im freien Gewebe.

Lunge: Massenhafte Abszesse mit dicken Bakterienhaufen.

Plexus uterinus: Thromben zum Teil ganz frisch, sehr stark leukozytenhaltig.

Leber: Alte eingedickte Abszesse, eingeschlossen zunächst von einem Wall von Pseudoxanthomzellen, dann von schwieligem Bindegewebe. Innerhalb dieses schwieligen Bindegewebes noch Reste von zugrunde gegangenem Lebergewebe und Gallengangswucherungen.

Knochenmark: Aeußerst zellreich, sehr reichliche Erythro- und Leukopoese.

Endokard: Schwerste chronische Endocarditis auf das Myokard übergreifend, mit scholligen Nekrosen.

Tricuspidalthrombus durchsetzt von Unmassen von Bakterien.

Der Versuch, aus dem Leichenblut und den Organen noch 48 Std. post mortem Gonokokken zu züchten, fiel, wie zu erwarten, negativ aus. Dagegen wuchsen noch hämolytische Staphylokokken und Coli.

Nachdem es uns so überaus leicht gelungen war, in den Ausstrichen aus den Leberabszessen und aus dem Exsudat des rechten Kniegelenks typische Gonokokken zu finden (soweit die Diagnose morphologisch und tinktoriell überhaupt möglich ist), haben wir mit besonderer Sorgfalt auch versucht, in den Organschnitten histologisch dieselben Bakterien nachzuweisen. In überraschender Weise ist letzteres gelungen. Die beschriebenen Diplokokken fanden sich derartig ubiquitär und in so klassischer Form, wie es bisher wohl nirgends beschrieben ist.

Kurz ein Wort über die Färbemethoden. Wo die Bakterien in großer Menge vorhanden waren, genügte bereits die gewöhnliche Hämatoxylin-Eosin-Färbung, um die Bakterien in ausreichender Weise zu Gesicht zu bekommen.

Die schönsten Bilder erhielten wir durch Färbung mit der Giemsa-Lösung nach K. Herxheimer, die vor allem auch noch da positive Resultate ergab, wo sehr wenige Kokken mit anderen Methoden nur mühsam auffindbar waren. Dieser Methode fast gleichwertig scheint uns zu sein, die Präparate 24 Std. in verdünnter Löffler-Methylenblaulösung zu belassen.

Weniger bewährten sich uns die Färbung nach Pappenheim mit Methylgrün-Pyronin, mit konz. Löfflerschen Methylenblau, mit polychromem Methylenblau nach Ziegler und Fränkel, mit Methylenblau nach Loeb (entfärben mit 10proz. Natriumhyposulfit) mit alkalischem und Borax-Methylenblau, nach Gram, mit Karbolthionin nach Kindborg, wobei die Gonokokken braun und die anderen Erreger angeblich alle rot gefärbt werden usw.

Die Hauptbedingung ist die Dicke des Schnitts; 3 μ mag die obere Grenze sein. Dann erzielt man wohl mit allen angegebenen Färbemethoden positiven Befund.

In allen Präparaten, in denen Diplokokken gefunden wurden, gelang es auch einwandfrei, die Kokken nach Gram zu entfärben. Die Diplokokken zeigen die typische Semmelform, liegen meist in größerer Zahl dicht beieinander, zum Teil intrazellulär; zum Teil frei im Gewebe. Wir beobachteten wohl Größenunterschiede, aber keine Unterschiede in

der Farbintensität. Zusammenfassend sei gesagt, daß die fraglichen Diplokokken in jeder Weise den Neißerschen Gonokokken identisch zu sein scheinen, und daß wir trotz aller durchaus zu fordernden Skepsis und Kritik überzeugt sind, daß es sich tatsächlich um echte Gonokokken handelte. Zum endgültigen Beweise fehlt allerdings die Kultur, die intra vitam nicht gemacht wurde und 48 Std. post mortem wohl kaum noch positiv zu erwarten war. Unsere Diagnose aber wird gesichert dadurch, daß das Mädchen schon vor 7 Jahren wegen einer Gonorrhöe behandelt wurde, daß sie seitdem kränklich blieb, daß jetzt vor $^3/_4$ Jahren im Urethralausstrich Gonokokken gefunden wurden, es spricht dafür die Krankengeschichte und vor allem die Sektion mit dem Befund am Genitale und den thrombosierten Venen des Plexus uterinus. Die differentialdiagnostisch besonders in Frage kommenden Meningokokken und der Diplococcus catarrhalis Pfeiffer sind selbstverständlich auszuschließen.

Tuberkulöse Herde konnten im Körper nicht nachgewiesen werden.

Die Herkunft der Staphylokokken in fast allen Organen erklärt sich wohl zwanglos aus den dekubitalen Geschwüren, von denen aus erst in letzter Zeit die Staphylokokkenaussaat noch zustande kam. Die relativ große Zahl der Staphylokokken ist zum Teil wohl durch eine postmortale Anreicherung bedingt.

Im einzelnen war der Bakterienbefund, wie folgt:

In großen Mengen finden sich Gonokokken in den ulzerösen Auflagerungen der Trikuspidalis und des Endokards und zwar in Sonderheit in den oberflächlichen Massen, weniger in der Tiefe. Hier sind sie auch in größeren Mengen als an der Oberfläche mit Staphylokokkenhaufen durchsetzt.

In den Schnitten von Uterus und Tube finden wir hauptsächlich Mischinfektion. Aber auch Stellen, die fast nur Gonokokken aufweisen, wiederum je weiter zur Schleimhaut hin, um so mehr Gonokokken. Die älteren Thromben im Plexus uterinus enthalten zumeist überhaupt keine Bakterien. Dagegen enthalten die frischen Thromben Staphylokokken in Massen und vereinzelte gut erhaltene Leukozyten sind mit Gonokokken förmlich überladen. Vereinzelt finden sich stark erweiterte Kapillaren, in deren offenbar frisch stagniertem Blut Gonokokken auch extrazellulär in größerer Menge lliegen.

Die geschwollenen regionären Lymphdrüsen enthalten ebenfalls Nester von Gonokokken.

Mit dem Befund in den gestauten Kapillaren in Uterus und Tube stimmt überein, daß auch in den Blutextravasaten der weichen Hirnhäute Gonokokken hier allerdings nur extrazellulär gefunden werden.

In der Milz ist der Nachweis von Gonokokken nur vereinzelt und unsicher gelungen. In unglaublichen Mengen sieht man Staphylokokken und größere und kleinere Stäbchen.

Anders in der Leber. Nicht nur in den kleinsten Abszessen, sondern auch im Parenchym, vereinzelt in den Kapillaren und intrazellulär in den Kupfferschen Sternzellen liegen Gonokokken neben zahlreichen Staphylokokken.

Unwesentlich ist der Befund im Femurmark. Nach langem Suchen erst findet man hin und wieder und nur vereinzelt Diplokokken.

Stellenweise bestehen die dicken Bakterienhaufen in den Abszessen in den Lungen fast nur aus Gonokokken, liegen jedoch hier und da so dicht, daß einzelne Gebilde selbst in dünnsten Schichten nicht unterschieden werden können.

Endlich finden sich Gonokokken auch in den Nieren und zwar nur vereinzelt in den Glomeruli, zumeist in den streifigen Bezirken zwischen den Harnkanälchen, auffallenderweise auch selten mit Staphylokokken untermischt. Stark untermischt dagegen in ausgesprochenen Abszessen. Nirgends sind die Gonokokken in den Harnkanälchen oder in den Zylindern, auch nicht in der Schleimhaut der Nierenbecken.

Unsere Diagnose lautet demnach: Chronische Gonokokkensepsis, ausgehend von Gonokokkeninfektion des Genitales mit sekundärer Staphylokokkenmischinfektion, ausgehend von ausgedehnten Dekubital-

geschwüren. Portioerosion. Doppelseitige, eitrige, Salpingitis. Perimetritis. Ulzerös-verruköse Endocarditis der Tricuspidalis, übergreifend auf das Herzwandendokard. Aeltere, zum Teil organisierte, zum Teil rekanalisierte Thrombose der rechten Vena femoralis, iliaca bis in die Vena cava. Frischere Thromben der linken Vena femoralis. Hochgradiges Oedem des linken Beines. Hochgradige, chronische, septische Milzschwellung. Multiple, ältere, sowie frische Milzabszesse. Abszeßnarbenleber. Multiple, frischere Leberabszesse. Chronische Peritonitis. Embolische Nephritis mit Abszeßbildung und schwerer Parenchymschädigung. Embolische, interstitiell gelegene Entzündungsherde in den Nieren. Gonorrhoische, eitrige, rechtsseitige Kniegelenksentzündung. Multiple, kleinste Blutungen und miliare Abszesse der Lungen. Blutungen der weichen Hirnhäute über dem rechten Hinterhauptlappen und linken Stirnlappen. Anämie des Gehirns. Hämorrhagische Infarkte der Basis des rechten Lungenunterlappens. Chronische Lymphadenitis zahlreicher Lymphknoten. Erschlaffung des hypoplastischen Herzens. Starke Trübung des Herzfleisches. Völlige Entfettung der Nebennierenrinde. Schleimhautblutungen und frische hämorrhagische Erosionen des Magens. Höchstgradige Abzehrung. Infantiler Habitus. Hydrothorax. Verwachsungen des rechten Unterlappens. Kleine Spitzennarbe der linken Lunge. Kalkherd im zugehörigen Lymphknoten.

Fall II.

Während wir noch mit der wissenschaftlichen Auswertung dieses Falles beschäftigt waren, kam bei uns ein an Staphylokokkensepsis Verstorbener zur Sektion. Das Bild besonders der sezierten Leber erinnerte so stark an das im Fall I beschriebene Leberbild, daß wir unbedingt an eine eventuelle Mitbeteiligung von Gonokokken denken mußten. Der Verdacht wurde verstärkt im Verlauf der weiteren Sektion, welche ausgedehnte Prostataabszesse mit thrombosierten Venen, positivem Gonokokkenbefund im Prostataeiter und im Eiter von Hautabszessen ergab. Dazu kam die Einsichtnahme in die Krankengeschichte und der histologische Befund.

Auszug aus der Krankengeschichte (K. I. 10700/25), die wir der Freundlichkeit von Herrn Direktor Knack verdanken:

28jähriger Mann (G. G.). Als Kind Masern. 1919 eine Gonorrhöe geheilt. Seit einigen Jahren verheiratet. Frau und Kinder angeblich gesund.

Ende September 1925 bis Oktober hatte Pat. am Halse nacheinander mehrere Furunkel. Angeblich bedingt durch das Scheuern des Kragens. Der letzte Furunkel mußte draußen geschnitten werden. Am 10. X. Erkältung, Husten, Schlaflosigkeit, Fieber, Schüttelfröste. Am 2. Tage Herpes labialis (Bericht des behandelnden Arztes). Das Befinden wurde schnell schlechter. Es stellten sich Blasenkatarrh und am 15. X. 25 ein Gelenkrheumatismus im linken Handgelenk ein. Verstopfung, die kaum zu beheben war, Leibschmerzen, Kopfschmerzen, sehr schlechtes Allgemeinbefinden. Wasser-lassen mit Schmerzen verbunden. Der Urin sieht rot aus. Rheumatismus allmählich in sämtlichen Gelenken.

Einweisung am 16. X. 25 ins Krankenhaus Barmbeck.

Aus dem Befund: Etwas aufgeregter Mann von ausreichendem Ernährungszustand. Subikterische Haut und Sklerenfarbe. Schleimhäute ganz gut durchblutet. Atmung schnell. Puls sehr schnell, klein, weich. Am Nacken rechts die Narbe eines Furunkels.

Lungen: lk. h.-u. Reibegeräusche.

Herz: o. B.

Abdomen: Diffuse Druckschmerzhaftigkeit, besonders aber im Oberbauch, r. u. lk. Leberdämpfung vergrößert. Milz nicht zu fühlen.

Extremitäten: Ausgesprochene Gliederschmerzen bei Bewegungen. Am r. Oberschenkel eine markstückgroße, rötlichblaue, fluktuierende Erhabenheit. Am lk. Unterarm rote fleckige Zeichnung, ähnlich wie am Bein.

Reflexe: o. B.

Rectal: Prostata wesentlich vergrößert. Lappen und obere Grenzen nicht abzutasten. Die ganze Prostatagegend fühlt sich derb, uncharakteristisch an und ist sehr druckempfindlich. Sekret spärlich, klar.

Aus Krankengeschichte und Kurve in aller Kürze:

16. X. 1925. Pantopon und Medinal. Urin 600/1030. Alb. +. Sach. —. Im Sediment viel Erythrozyten. Temperatur 36,9—37,2°. Puls 110—120 p. Min.

17. X. 1925. Blutdruck 115/68. WaR. negativ. Erythroz. 5,4 Mill. Hgb. 95 Proz. Leukoz. 17 400. Jugendl. 8 Proz. Mono 2 Proz. Stab. 29 Proz. Segm. 37 Proz. Lymph. 7 Proz. Blutkultur: hämolytische Staphylokokken. Temperatur 36,9—39,9°. Puls 110—125.

18. X. 1925. Temperatur früh 39,2°. Allgemeinbefinden verschlechtert. Puls kaum zu fühlen, nicht zu zählen, über 140. Nach Infusion von physiolog. NaCl-Lösung geringe Besserung. Mittags Exitus letalis.

24 Std. post mortem findet bei uns die Sektion statt (Oberarzt Dr. Gerlach). Auszug aus dem Sektionsprotokoll (N. 940/1925) wiederum in möglichster Kürze:

Leiche eines Mannes in gutem Ernährungszustand. Haut und Skleren mittelstark ikterisch. Pupillen sind weit, r. wie lk. Am Nacken r. ein Querfinger breit unter der Haargrenze, 2 Finger breit zur Mittellinie vom hinteren Sternocleidorand eine ältere, 1,5 cm lange, eingezogene Schnittwunde über einer wenig geröteten, harten, 1-M.-Stück-großen geringen Erhabenheit. Am r. Oberschenkel eine Hand breit über dem lat. Epicondylus, an der Außenseite des Beines eine 1-M.-Stück-große leichte Vorwölbung der Haut, die angeschnitten direkt auf der Fascia lata gelbgrünen Eiter erkennen läßt.

Im Bereich des Schädels und des Gehirns keine Besonderheiten.

Brusthöhle: Die Pleura beider Lungen trüb, mit feinen fibrinösen Auflagerungen. Die Organe des vorderen Mediastinums sind ebenfalls durch schmierig-dünnflüssige Massen getrübt.

Herz: Von außen zeigt der Herzbeutel sich schmierig belegt, auf der Innenseite ganz glatt und spiegelnd. Im Herzbeutel ca. 50 ccm einer gelben, leidlich klaren Flüssigkeit. Das Herz ist in toto ohne Besonderheiten, bis auf kleine subepikardiale Blutungen. In den Herzhöhlen ikterische Speckgerinnsel.

Lungen: Auf dem Schnitt beide sehr saftreich von gelbroter bis dunkelroter Farbe. Unter der Pleura besonders an der r. Lunge zahlreiche, herdförmig angeordnete kleine Eiterherdchen, die auf dem Schnitt nicht über Kirschkern-groß sind und mit gelbem Eiter gefüllt sind. In der lk. Lunge sind diese Herde sehr spärlich.

Stark gerötete Bronchial- und Trachealschleimhaut. Beide Tonsillen sind deutlich geschwollen, auf dem Schnitt zeigen sich einige Eiterpfröpfe.

In der Bauchhöhle kein fremder Inhalt. Regelrechte Lage der Eingeweide.

Milz ist stark vergrößert und stark gekerbt. Oberfläche ist glatt. Konsistenz weich, auf dem Schnitt leicht abstreifbare Pulpa.

Magen: Schleimhaut zeigt einige Blutungen, desgl. die des Dünndarms.

Die Leber ist von glatter Oberfläche und dunkelbrauner Farbe. Unter der Kapsel lassen sich viele kleine Kleeblatt-förmige und Geweih-ähnliche, gelbbraune und gelbe, oft herdweise angerordnete Eiterherdchen erkennen. Auf dem großen Schnitt durch das ganze Organ zeichnet sich ein gelbbrauner, innen liegender, zackig begrenzter Leberbezirk scharf gegen das mehr dunkelrotbraune Lebergewebe der Peripherie ab. In den äußeren Partien nahe der Glissonschen Kapsel finden sich massenhaft Eiterherde, die von der Oberfläche aus schon sichtbar waren. Teils sind diese von gelbbrauner schmutziger Farbe ohne dünnflüssigen Eiter mit mehr oder weniger gelblichem Bindegewebe abgegrenzt, teils läßt sich auf Druck sämiger gelber Eiter entleeren.

Gallenblase und Gallenwege in Ordnung, desgl. Pankreas und Nebennieren.

Nieren: Kapseln sehr leicht abziehbar. Oberfläche glatt, beiderseits mit einigen gelben Eiterpünktchen von Hirsekorngröße unter der Kapsel. Farbe der Nieren blaurot, auf dem Schnitt deutliche Mark-Rindenzeichnung. Nierenbeckenschleimhaut samtartig verdickt, grünlich gefärbt. Die grünliche Farbe nimmt beim Liegen an der Luft bis zum Blaugrün des $CuSO_4$ zu.

Harnblase ist klein. Der ganzere vordere-untere Teil der Blasenschleimhaut in der Gegend des Trigonums ist scharf abgegrenzt gegen die leidlich intakten hinteren-oberen $^2/_3$ der Blase. Im vorderen-unteren Blasendrittel finden sich hochrote, dicke Wülste, die mit feinen, ziemlich gleichmäßig verteilten kleinen Eiterpünktchen und mit nekrotischen Massen bedeckt sind.

Die Prostata ist nicht scharf gegen die Umgebung abzugrenzen. Schon beim Herausnehmen der Beckenorgane müssen die stark infiltrierten Gewebe überall scharf gelöst werden. Auf dem Schnitt zeigt sich ein gleichmäßiges Bild von schmutzig rotgrauem Grund, der überall mit gelben Eiterherden wie übersät ist. Auf geringen Druck entleert sich der gelbe Eiter leicht. Dasselbe Bild zeigt das Gewebe um die Prostata herum. Die Samenblasen sind von dem infiltrierten Gewebe fest zusammengedrückt, aber deutlich erkennbar.

In diesem zweiten Falle versuchten wir noch die Kultur von Erregern aus dem Herzblut. Es wuchsen jedoch nur hämolytische Staphylokokken. (Der negative Ausfall der Kultur kann niemals gegen die Diagnose Gonorrhöe verwendet werden.)

Mikroskopisch:

Leber: Unter der Glissonschen Kapsel gelegene Abszesse mit z. T. schon zerfallenen Leukozyten und zelligem Detritus im Zentrum, nach der Umgebung zu kaum abgegrenzt. Andere Abszesse sind ausgesprochen bindegewebig abgekapselt und zeigen eine ähnliche, weniger ausgeprägte Schichtung ihrer Abszeßwand, wie in Fall I beschrieben ist. In ihrer Umgebung Blutungen und Zirkulationsstörungen. Manche Stellen der Leber weisen gehäuftes braunes Pigment auf.

Milz: Hochgradige Hyperämie. Sehr starke Lockerung. Verkleinerte Follikel.

Prostata: Ganz von Abszessen durchsetzt, desgl. die verschwielte Umgebung. Im Plexus prostaticus massenhafte vereiterte Thromben. In den Abszessen stellenweise ungeheure Massen von Bakterien, ebenso in den Thromben, von denen aber manche fast leukozytenfrei sind. Hier und da ausgedehnte Blutungen ins Gewebe.

Pars posterior der Harnröhre frei von akuten entzündlichen Erscheinungen.

Im Nacken ältere, abheilende, vielfach rundzellige Entzündung bei stärkerer Hyperämie und beträchtlicher perivaskulärer Zellinfiltration.

Am Oberschenkel unter der Haut und um die Fascie ein in die Umgebung ohne Grenzen übergehender, reichlich Leukozyten enthaltender Abszeß.

Nieren: Hyperämie. Starke Eiweißausscheidung. Das Bild entspricht fast ganz dem der Nieren, wie wir es in Fall I beschrieben haben. In Fall II liegen die kleinen Abszesse mehr zur Oberfläche, und es findet sich eine chronische Entzündung der Nierenbeckenschleimhaut, deren entzündliche Infiltration auch noch wenig ins Nierenparenchym hineinreicht.

Die sofortigen Eiterausstriche aus den Prostataabszessen sowie aus dem subkutanen Abszeß am Oberschenkel ergeben neben zahlreichen Staphylokokken, wie in Fall I, auch hier in Haufen, zum Teil intrazellulär gelagerte gramnegative Diplokokken in Semmelform, die wir auch hier für echte Gonokokken halten.

Alles, was wir bei Fall I über die Untersuchung der histologischen Schnitte auf Bakterien gesagt haben, gilt auch für Fall II. Im allgemeinen finden wir in Fall II vielmehr Staphylokokken und weniger Diplokokken, die wir — wie eben gesagt — ihrer morphologischen und tinktoriellen Eigenschaften wegen für echte Gonokokken halten müssen.

Besonders interessant war der Befund in der Prostata. Auffallenderweise enthalten hier die ausgedehnten Eiterherde zum größten Teile nur Staphylokokken. Nur vereinzelt, aber um so eindeutiger finden sich durch schwieliges Bindegewebe eingeschlossene Herde, die fast nur Gonokokken enthalten. Da, wo diese Herde auch Staphylokokken enthalten, ist auch stets die schwielige Wand mehr oder weniger durchsetzt mit frischer, akuter, entzündlicher Infiltration, durch welche hindurch man die Gonokokken bis in die benachbarten Staphylokokkenherde verfolgen kann. Ebenso wie in Fall I finden sich die Gonokokken auch in den Leukozyten frisch thrombosierter oder gestauter Venen.

In dem Leberabszeß vorwiegend Staphylokokken, aber auch sichere, z. T. intrazellulär liegende Gonokokken. Vereinzelte Gonokokken frei im Leberparenchym.

In der Milz ist der Nachweis von Gonokokken besser gelungen, als in Fall I. Aber auch hier hätten wir auf den Befund in der Milz allein keine sichere Diagnose aufzubauen gewagt. Die Hauptschwierigkeit liegt vielleicht darin, daß es kaum gelingt, von einer septischen, so überaus zell- und bakterienreichen Milz genügend dünne Schnitte zu erhalten.

Entsprechend dem Befund von Gonokokken im Eiter aus dem Abszeß am

Bein, finden wir diese auch im histologischen Schnitt der Abszeßgegend unregelmäßig mit großen Mengen von Staphylokokken untermischt.

Der abgeheilte Furunkel im Nacken enthält so gut wie überhaupt keine Bakterien, wenigstens keine Diplokokken.

Der Bakterienbefund in den Nieren entspricht dem des ersten Falles. Auch hier liegen Gonokokken frei zwischen den Harnkanälchen in Haufen z. T. intrazellulär, weiter in geringer Zahl zumeist in der Peripherie der ausgesprochenen Rindenabszesse, nicht dagegen in den Harnkanälchen und nicht in der Nierenbeckenschleimhaut.

Wir sind uns bewußt, daß zwischen dem Versuch, ein Krankheitsbild a posteriori an der Leiche zu rekonstruieren und zwischen vager Spekulation fließende Uebergänge bestehen. Dennoch möchten wir nach unserem Befunde annehmen, daß es sich hier primär um eine Staphylokokkensepsis handelt, die von dem Furunkel am Nacken ausgegangen ist, daß der Patient aber im Anschluß an die zugegebene Gonorrhöe vor 6 Jahren in der Prostata abgekapselte, klinisch inaktive Gonokokkenherde zurückbehalten hat, daß diese durch die (am locus minoris resistentiae?) einbrechenden und dort das größte Zerstörungswerk anrichtenden Staphylokokken sozusagen befreit wurden und zur septischen Aussaat kamen. Die angenommene Lebensdauer der Gonokokken in der Prostata erscheint klein gegen Beobachtungen von Moro, der bei 31 Proz. aus chirurgischen Gründen untersuchter Fälle noch 1—42 Jahre nach der gonorrhoischen Infektion durch Prostatamassage im Urethralausstrich Gonokokken gewinnen konnte, ohne daß klinisch eine Gonorrhöe in Erscheinung trat.

Wenn wir nun bei diesem Falle die Frage aufwerfen, welche von den beiden Infektionen jetzt letzten Endes zum Tode geführt hat, so können wir uns zu einer einfachen Antwort nicht entschließen; denn wir wissen, daß sowohl eine Staphylokokken- als auch eine Gonokokkensepsis allein eine todbringende Krankheit sein kann, was fraglos für den ersten Fall gilt. Solange wir an der Annahme festhalten, daß im zweiten Falle die Staphylokokkensepsis jetzt die primäre Erkrankung war, muß uns diese zunächst als die Todesursache genügen. Wir können dann weiter sagen, daß ohne die Staphylokokkeninvasion die latente Gonorrhöe jetzt wohl kaum generalisiert worden wäre, oder umgekehrt, daß die klinisch nicht in Erscheinung getretenen, abgekapselten Gonokokken in der Prostata doch nicht etwa den Staphylokokken das Feld zur septischen Aussaat geebnet haben. Die Antwort auf obige Frage lautet demnach mit allem Vorbehalt, der sich besonders auf die Tatsache bezieht, daß die Gefäße in der Gegend des abgeheilten Furunkels nur perivaskuläre Infiltration aufweisen, sich dagegen im Plexus prostaticus vereiterte Thromben finden. Die wahrscheinlich durch die Staphylokokken mobilisierten Gonokokken haben die Sepsis zu einer besonders schweren gestaltet.

Unsere pathologisch-anatomische Diagnose lautet also:

Staphylokokken-Gonokokkenallgemeininfektion. Septische Milzschwellung. Zeichen vorgenommener Eröffnung eines kleinen Furunkels der rechten Nackenseite. Ausgedehnte abszedierende Entzündung der Prostata mit völliger Vereiterung derselben und ihrer Umgebung, neben alten abgekapselten Eiterherden. Multiple, zum Teil vereiterte Thromben des Plexus prostaticus. Aeltere und frische, sehr zahlreiche Abszesse der Leber. Nierenabszesse. Embolische, interstitielle Nephritis. Schwere chronische Cystitis und aszendierende Pyelonephritis. Multiple Lungenabszesse. Fibrinös-eitrige Mediastinitis. Geringe, chronische Tonsillitis. Atherosklerose der Aorta mäßigen Grades.

Bei der Durchsicht der Literatur fällt uns auf, daß in den letzten 10 Jahren (Hübschmann, Dweyer, Sutter, Boas, Massini, Herxheimer, Passini, Vildenkow, Pflanz, Socin, Michael, Mitropolsky, Zieler, Weitz, Dorner, Buschke u. Langer, Oettinger, Hadora, Lindau u. a.) zum Unterschied gegen früher neben kasuistischen Mitteilungen kaum größere Arbeiten über die gonorrhoische Allgemeininfektion zu finden sind, die nach Leschke und Jochmann immerhin 5 pro Mill. der Sepsisfälle ausmacht (Dorner).

Nach Nobl wird die Kenntnis von den „blenorrhoischen" Metastasen von einigen Autoren bis auf Hippokrates und Celsus zurückgeführt. Jedenfalls wurde die klinische Einheit von extragenitalen Begleiterkrankungen (gonorrhoischer Rheumatismus) und lokaler Gonorrhöe schon $^1/_2$ Jahrhundert vor Neißers Entdeckung des Gonokokkus (1879) besonders seitens der Franzosen vermutet. Von anderen allerdings wurde die Blenorrhöe oder Gonorrhöe für eine ausschließlich lokale Schleimhauterkrankung gehalten und der Gonokokkus unter die Reihe lokaler Infektionserreger und exquisiter Schleimhautparasiten rubriziert. Jedenfalls war zunächst weder die Kultur gelungen noch die experimentelle Erzeugung von Gonorrhöe durch Ueberimpfung von fraglichem Material, das an Gonokokkensepsis Erkrankten oder Verstorbenen entnommen war. Wohl wies man so die gewöhnlichen Eitererreger nach.

In den 80er Jahren gelang es dann (nach Schlagenhaufer), Diplokokken vom Typ der Neißerschen in verschiedenen Körperregionen mikroskopisch nachzuweisen. Dann auch hat die Ueberimpfung der aus metastatischen Herden gezüchteten Kulturen zu wiederholten Malen das typische Bild der Blenorrhöe im Gefolge gehabt (1894 Kwiatkowsky, Bordoni-Uffreduzzi, 1895 Colombi, Jundell u. a.). Nobl wies Gonokokken in den alterierten extraparenchymatösen Lymphsammelbahnen des Beckens nach, Colombi u. a. in den inguinalen Adenitiden.

Am meisten war man bemüht, Klarheit in die Herzkomplikationen zu bringen, die man im Zusammenhang mit der Polyarthritis rheumatica kannte und im Verein mit Tripperrheumatismus wiederfand.

Die ersten bakteriologischen Untersuchungen erkrankter Herzklappen von an Gonorrhöe Verstorbenen mußten enttäuschen; denn man konnte nur die Mischinfektion als Ursache für die Veränderungen verantwortlich machen. Diese Ansicht blieb vorherrschend, selbst als His 1892 als erster in den Schnitten aus erkrankten Herzklappen (eines 19jährigen, an Tripper verstorbenen Mannes) Diplokokken gesehen hatte, die den Neißerschen mikroskopisch und tinktoriell völlig entsprachen, die er aber selbst nicht als Gonokokken anzuerkennen wagt, da solche Beobachtungen noch nicht vorlagen. Ebenso 1893 v. Leyden, 1895 Finger, Ghon und Schlagenhaufer, Michaelis u. a. Ja, man lehnte die Diagnose Endocarditis gonorrhoica überhaupt ab, da der kulturelle Nachweis der Gonokokken nicht zu erbringen war. Finger, Ghon und Schlagenhaufer führen das Fehlschlagen von Gonokokkenkulturversuchen auf das intra vitam vorhanden gewesene Fieber zurück. Sie konnten nachweisen, daß wachsende Gonokokkenkulturen bei einer Temperatur von 39° (und unter 30°) zugrunde gehen. Auch der äußersten Skepsis wurde schließlich Genüge getan und tatsächlich der kulturelle Nachweis der Gonokokken intra vitam et post mortem bei maligner Endocarditis gonorrhoica erbracht. 1895 von Welch, 1896 von Tayer und Blumer, 1897 von Rendu und Hallé, von Len-

hartz, Ghon und Schlagenhaufer usw. Man scheute auch nicht vor dem experimentum crucis zurück und erbrachte den kulturellen Nachweis dadurch, daß man „geeigneten" Patienten vom fraglichen Material in die Urethra verimpfte.

Die ersten, denen es gelang, Gonokokken aus endokarditischen Auflagerungen zu züchten und zu verimpfen, waren: Lenhartz, M. Wassermann, Krönig, Wolff, Aehmann, Thaler, Nobl, Nogerès, Wasserthal u. a.

Im Laufe der Zeit hat man drei Formen der Endocarditis bei Gonorrhöe kennen gelernt:

1) die Endocarditis gonorrhoica kat' exochen, deren Erreger der Gonokokkus allein ist,

2) die Endocarditis bei Gonorrhöe als Ausdruck einer Sekundärinfektion des Klappenaparates nur durch andere Erreger,

3) die Endocarditis bei Gonorrhöe als Mischinfektion, wobei neben Gonokokken auch andere Erreger sich finden. Diese Form ist wohl die seltenste, da der Gonokokkus sich neben hochvirulenten Keimen gar nicht behaupten kann.

Zur letzteren Form gehört auch unser erster Fall sowohl in bezug auf die Endocarditis als auch in bezug auf die Sepsis überhaupt — wenigstens nach dem Sektionsbefund beurteilt. Wie oben ausgeführt, haben wir allen Grund zu der Annahme, daß es sich Monate lang im ersten Fall um eine reine Gonokokkensepsis gehandelt hat. Der zweite Fall ist gleichfalls eine Mischinfektion.

Im strömenden Blut wurden Gonokokken kultiviert von Thayer und Blumer, Ahmann, Thayer und Lazear, Colombini, Faure-Beaulieu (beschreibt 34 Fälle), Panicidi, Unger, Dippelmann, C. Barbiani (1902), P. Krause (1904), Brehmer (1905), Himmelheber (1907), Dieulafoy (1909). Fast alle sind der Ansicht, daß das Blut nur ein Vehikel für die Gonokokken sei, und daß überaus schnell eine Ablagerung an disponierten Stellen erfolge, daß aber auch hier die Gonokokken nicht lange in den exsudativen Produkten vegetieren könnten und dann nur noch in den entzündlichen Auflagerungen nachweisbar wären.

Schon damals wurde den Toxinen der Gonokokken für die Provokation blenorrhoischer Metastasen ein breiter Raum zugewiesen, da eben der mittels Punktion gewonnene Inhalt metastatischer Erkrankungsherde steril war (Jaquet 1892, Thibierge 1893, Nobl, Stanziek u. a.). Dementsprechend entwickelte sich die Ansicht, daß das Gonotoxin an den Körper der Mikroben gebunden ist und erst beim Absterben der letzteren frei wird. Jadassohn schreibt, daß die gonorrhoischen Prozesse in letzter Linie immer toxisch sind, und daß z. B. bei gonorrhoischen Thrombosen unzweifelhaft die der Thrombose vorangehende toxische Gefäßwandschädigung das ätiologisch wichtigste Moment sei. Er lehnt Gonokokkenembolien direkt ab (Handb. d. Geschl.-Krankheiten).

Durch die vielen Fälle, die zum Teil usque ad finem durchgeführt waren, wurde auch der letzte Einwand ausgeschaltet, und es konnte nicht mehr bezweifelt werden, daß es eine durch den Gonokokkus bedingte Endocarditis und Sepsis gibt.

So interessant es sein mag, allen diesen Beobachtungen, Versuchen und Ansichten chronologisch nachzugehen, so müssen wir uns doch auf obige kurze Angaben beschränken und die heute herrschenden Ansichten über die Gonokokkensepsis als bekannt voraussetzen.

Ueber diese hinaus ist wohl als Besonderheit in unserem ersten Fall die isolierte Trikuspidalaffektion zu betrachten. Die erste Beschreibung einer solchen (neben einer Pericarditis gonorrhoica) finden wir 1899 bei Thayor u. Lazear in einem klinisch und bakteriologisch einwandfrei beobachteten Fall von Gonokokkensepsis. Wenn auch noch mehrere derartige Beobachtungen gemacht und insonderheit auch klinisch allein dem rechten Herzen zuzuschreibende Geräusche gehört sind, so gehören dennoch gonorrhoische Affektionen der Tricuspidalis zu den Seltenheiten. Charakteristisch für alle gonorrhoischen Klappenauflagerungen scheint die eigenartige gelbliche Farbe zu sein, die neben der Lokalisation zuerst bei uns den Verdacht aufkommen ließ, daß es sich um eine Gonokokkensepsis handeln könnte.

Größeres Interesse als die Herzveränderungen scheint uns die Tatsache zu beanspruchen, daß es uns gelungen ist, im ersten Falle in fast allen, im zweiten Falle in vielen Organschnitten Gonokokken mikroskopisch nachzuweisen, eine Tatsache, die uns in dem Ausmaße bisher nicht bekannt war und wohl auch nur so zu erklären ist, daß einmal sehr viele Gonokokken ausgeschwemmt sein müssen, und zum andern auch noch sub finem. Denn wir wissen, daß die Gonokokken sich weder im strömenden Blut noch frei im Gewebe, noch in entzündlichen Exsudaten länger halten können (wohl in entzündlichen Auflagerungen). Etwas anderes ist es, wenn die Gonokokken in eingekapselten Herden liegen, in denen sie den Schutzkräften des Körpers mehr oder weniger entzogen sind resp. sich denselben immer mehr anpassen können, also virulenter werden. Buschke u. Langer konnten nachweisen, daß anaërob gezüchtete Gonokokken eine zwar herabgesetzte, aber lange Lebensfähigkeit bei erhaltener Virulenz und sogar gesteigerter Resistenz gegen Temperaturen aufweisen. Nur so ist es denkbar, daß in unseren beiden Fällen die einmal eingedrungenen Gonokokken sich so lange halten konnten. Es besteht kein anamnestischer, klinischer oder autoptischer Anhaltspunkt für die an sich gegebene Möglichkeit, daß die beiden Individuen sich ein zweites Mal infiziert haben sollten. Der Unterschied ist der, daß offenbar bei dem kleinen Mädchen, dessen Siechtum mit der ersten (und einzigen) Infektion beginnt, die Gonokokkeninfektion dauernd als chronisch schleichende Entzündung des Genitale floride blieb, während sie im zweiten Falle nach der Infektion latent wurde und erst durch die Staphylokokkeninvasion zur Aussaat kam.

Man kennt ja viele Momente, durch die eine latente Gonorrhöe wieder aufflackern und generalisiert werden kann: Gravidität, Menstruation, Trauma, die Therapie, Exzesse in Baccho et Venere, Tuberkulose, Diabetes usw., also auch eine Sepsis. Die Virulenz der Gonokokken spielt dann eine geringere Rolle als die herabgesetzte Widerstandsfähigkeit des Organismus. Hirsch beschreibt einen Fall, bei dem eine Gonorrhöe nach 10 Jahren wieder floride wurde.

Die Fieberkurve des kleinen Mädchens ist die als für Gonokokkensepsis typisch beschriebene und demnach hat fast im ganzen letzten Jahre bei ihr eine schubweise Aussaat stattgefunden, und erst gegen Ende ist es durch die ausgedehnten dekubitalen Ulzerationen noch zur Mischinfektion mit Staphylokokken gekommen. Die morgendlichen Remissionen bis auf normale Temperaturen werden angeblich durch die Biologie der Gonokokken bedingt: Jede Aussaat führt zu reaktivem Fieber, dieses tötet die ausgeschwemmten Gonokokken ab und die hohe

Temperatur verschwindet über Nacht wieder. Die gleichsam anaërob lebenden, eingekapselten Gonokokken aber bleiben virulent und können am nächsten oder in weiteren Tagen zur Aussaat kommen. Auf diese Weise entsteht angeblich der so charakteristische Fiebertyp (siehe Abbildung in Jochmann-Hegler 1924, S. 174). Dieser Zustand hat, was besonders erwähnenswert erscheint, in dieser schleichenden, rezidivierenden im ersten Fall monatelang angehalten, ohne jemals in den Typ der Sepsis lenta Schottmüller überzugehen. Der Verlauf der Sepsis im ersten Fall ist also auch insofern ungewöhnlich, als die Gonokokkensepsis entweder in spätestens wenigen Monaten zum Tode führt oder aber als Sepsis zur Ruhe kommt.

Eine weitere Besonderheit, die bisher nicht bekannt ist, stellt die Leberveränderung dar, die im zweiten Falle sofort an den ersten erinnerte und an die Mitbeteiligung von Gonokokken denken ließ, ehe wir die Prostata gesehen und von der Krankengeschichte gehört hatten. Der Befund soll an dieser Stelle nicht wiederholt werden. Die Identität der beiden Leberbilder scheint uns doch mehr als bloßer Zufall zu sein. Das Auffallende und in beiden Lebern so Aehnliche waren insonderheit die älteren Abszesse mit dem eingedickten Eiter und der eigenartigen, gelblichen, pseudoxanthomzellenhaltigen Abszeßmembran.

Recht schwierig erscheint uns eine sichere Stellungnahme zu den Veränderungen der Nieren in beiden Fällen. Echte Glomerulonephritiden bei Gonorrhöe sind nach Hübschmann nur zwei einwandfrei bekannt. In unseren Fällen handelt es sich nicht um reine Glomerulonephritiden, sondern um herdweise lokalisierte, besonders im Interstitium liegende gonokokkenhaltige, embolische Entzündungsherde. Immerhin erscheint es nicht ausgeschlossen, daß sich eine echte Glomerulonephritis bei längerer Lebensdauer noch hätte entwickeln können, zumal wir Gonokokken in den Glomerulusschlingen gefunden haben. Die Toxin bildenden Staphylokokken kommen nach Hübschmann, Fahr, Löhlein, zum Teil auch Vollhardt, dafür kaum in Frage, wohl die im Gewebe schnell zerfallenden Endotoxin bildenden Gonokokken.

Daß wir in beiden Fällen Gonokokken in den frischen Thromben gefunden haben, beweist erneut, daß es eine echte Thrombophlebitis gonorrhoica gibt, die fast immer als Ausgangspunkt einer Sepsis nachweisbar ist. Nach Boas sind bis 1919 ca. 20 einwandfreie Fälle beschrieben. Lindau beschreibt sogar eine ulzeröse Aortitis gonorrhoica.

Auch die peritonitischen Veränderungen im Unterbauch unseres ersten Falles stellen keine Besonderheit dar. Klinisch und experimentell ist nachgewiesen, daß die Gonokokken eine Peritonitis machen können (Nöggerath, Wertheim, Charrier u. a.). Die Möglichkeit zu aszendieren, ist bei der Frau naturgemäß gegeben. Die Prognose ist gut, selbst bei akuter, bedrohlich erscheinender Gonokokkenperitonitis (Broca, Mauclaire). Vor der Operation wird auch dann zumeist gewarnt. Die Gonokokkenperitonitis remittiert oft, ist sehr schmerzhaft — Tatsachen, die — ceteris paribus — der Krankengeschichte unseres ersten Falles entsprechen.

Leider verbietet uns der Raum, auf die übrigen mehr oder weniger bekannten Einzelheiten näher einzugehen. Wir müssen uns auf die oben geschilderten Besonderheiten beschränken. Diese aber bekannt zu geben, fühlten wir uns veranlaßt, da sie bisher nicht beschrieben sind. Trotz reichlichster Kasuistik ist das Bild der Gonokokkensepsis noch lange nicht präzisiert und bedarf wohl noch weiterer Bearbeitung, um so mehr

in einer Zeit, in der die venerischen Infektionen eine so große Rolle spielen, in der erneut versucht wird, mit Gesetzeshilfe die Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten aufzunehmen, und in der andererseits das Kurpfuschertum immer gefahrdrohender gerade die venerischen Infektionen als Domäne seiner Behandlungsart beansprucht.

Literatur.

Ahmann, Gonokokken-Allgemeininfektion. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 39. 1897. H. 3.) — Ders., Studien über Gonorrhöe. 1901. — Ders. u. Jundell, Reinzüchtung des Gonokokkus. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 38. 1897.) — Barbiani, La Gonococciema. (Giorn. it. d. l. mal. ven. e d. pelle. 1902.) — Boas, Gonokokkenphlebitis. (Derm. Wochenschr. Bd. 69. 1919.) — Brehmer, Gonokokkensepsis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1905.) — Broca, Gonokokkenperitonitis. (Journ. de Pratic. 1909. No. 34.) — Buschke u. Langer, Biologie der Gonokokken. (Derm. Wochenschr. 1921. S. 72. Dtsch. med. Wochenschr. 1921. S. 64. Arch. f. Derm. 1922. S. 138.) — Buschke u. Lazear, 12. Kongreß d. Dtsch. Derm. Gesellsch. — Charrier, De la péritonite blenorrhagique. Paris 1892. — Colombini, Journ. it. d. mal. vener. 1890. — Dieulafoy, Septicémie gon. (Journ. de Pratic. 1909. No. 16.) — Ders., Gonokokkensepsis mit Typhus kombiniert. (La Presse méd. 1909. No. 40.) — Dippelmann, Gonokokken im Blut. [Diss.] Zürich 1902. — Dorner, Gonokokkensepsis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1923. S. 1549.) — Dweyer, Gonokokkensepsis and Endocarditis. (Journ. Americ. Med. Assoc. Vol. 75. 1920.) — Faure-Beaulieu, [Thèse]. Paris 1906. (Ref. bei Massini.) — Finger, Gonokokkämie. (Wien. klin. Wochenschr. 1896.) — Finger, Ghon u. Schlagenhaufer, Biologie d. Gonokokken. (Arch. f. Derm. u. Syph. 1894 u. 1895.) — Ghon u. Schlagenhaufer, Ueber Gonokokken. (Wien. klin. Wochenschrift. 1898. S. 24.) — Herxheimer, Karl, Färbung der Gonokokken im Schnitt. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 130. 1921.) — Himmelheber, Gonokokkensepsis. (Med. Klin. 1907.) — Hirsch, Lebensdauer d. Gonokokken. Dtsch. med. Wochenschr. 1924. S. 1613.) — His, Herzkrankh. bei Go. (Berl. klin. Wochenschr. 1892. S. 993.) — Hodora, Gonokokkämie. (Derm. Wochenschr. Bd. 54. 1912.) — Hübschmann, Endocarditis gon. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 73. 1912.) — Ders., Akute Glomerulonephritis. (Med. Klin. 51. 1920.) — Ders., Pathologie der Gonokokkenprozesse. (Verh. d. 6. Kongr. d. Derm. Ges. Breslau 1894.) — Jadassohn, Hdb. d. Geschlechtskrankheiten. 1910/12. — Jaquet, Rech. de. clinique et de bact. (Ann. de Derm. et de Syph. 1892.) — Jochmann-Hegler, Lehrb. d. Infektionskrankh. 1924. — Kindborg, Gonokokkenfärbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. H. 4.) — Krause, Gonokokkensepsis. (Berl. klin. Wochenschr. 1904.) — Krönig, Bakteriol. Untersuchung von Lochien. (Ztschr. f. Gyn. 1895. Nr. 27.) — Lenhartz, Endocarditis gon. (Münch. med. Wochenschr. 1897.) — v. Leyden, Endocarditis gon. (Dtsch. med. Wochenschr. 1893. Nr. 19.) — Lindau, Aortitis ulc. gon. (Act. path. et mikrobiol. scandin. Bd. 1. 1924. H. 3.) — Loeb, Nachweis der Gonokokken. (Derm. Wochenschr. Bd. 24.) — Massini, Gonokokkensepsis. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. 83. 1915.) — Michael, Beiträge zur Kasuistik. (Derm. Wochenschr. Bd. 24.) — Michaelis, Endocarditis gon. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 29. 1896.) — Miropolsky, Kasuistik. (Russ. Zeitschr. f. Haut- und Geschlechtskrankh. Bd. 23. 1912.) — Moro, Beständigkeit der Gonokokken i. d. Prostata. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 71. 1911.) — Nobl, Seltene Komplikationen der Gonokokken. (Jahrb. d. Wiener Krankenanst. 1893.) — Ders., Biologie der Gonokokken. (Wiener klin. Rundschau. 1901. Nr. 47.) — Ders., Gonokokken-Metastasen. (Im Hdb. d. Geschlechtskrankh. 1910/12). — Noguères, Ann. des mal. des org. gén.-urin. 1908. Nr. 17. — Oettinger, Gonokokkensepsis. (Soc. méd. des Hôpit. de Paris. 1914. T. 37.) — Panichi, Due casi di gonococcemia. (La settim. medica. 53. p. 34.) — Passimi, Gonokokkenperitonitis. (Giornale ital. d. mal. vener. e della pelle. 1921. Fasc. 3.) — Pflanz, Gonokokkensepsis. (Med. Klin. 1916. Nr. 31.) — Rendu und Hallé, Bull. et Mém. de la Soc. méd. des Hôpit. de Paris. 1897.) — Schlagenhaufer, Ueber Gonokokken-Endokarditis. (Im Hdb. d. Geschlechtskrankh. Wien [Hölder] 1910/12.) — Socin, Genese der Gonokokkensepsis. (Berl. klin. Wochenschr. 1916. Nr. 31.) — Stanziale, Ricerche batt. e sperim. su di un caso at Gon. (Gaz. d. osp. Milano 1893. — Sutter, Gonokokkensepsis. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 87. 1919.) — Thaler, Gonokokken im Blut bei sept. Gonokokken-Endokarditis. [Diss.]. Rostock 1906/07. — Thayer und Blumer, Endocarditis gon. (Bull. John Hopkins Hosp. Vol. 7. 1896.) — Thayer und Lazear, A sec. case of gon.

Septicaemia. (Journ. of Exp. Med. 1899.) — Thibierge, Arthr. stern.-clav. d'org. blenn. (Semaine méd. 1892.) — Unger, Gonokokken im Blut. (Dtsch. med. Wochenschr. 1901.) — Vildenkow, Gonococcen-Periton. (Ugeskr. for Laeger. N. 39. 1920.) — Wassermann, Gonokokkenkultur und Gonokokkengift. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. H. 22. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37. H. 2.) — Ders., Lit. (Münch. med. Wochenschr. 1901.) — Wassertal, Ann. des mal. des org. gén.-urin. 1908. Nr. 1. — Weitz, Gonokokkensepsis und akute Leberatrophie. (Med. Klin. 1912. Nr. 5.) — Welch, Gonokokken Endocarditis. (Med. Record. 1895. p. 756.) — Wertheim, Aszendierende Gonorrhöe beim Weibe. (Arch. f. Gyn. 1892.) — Wolff, Gonokokkenpräparate und -kulturen. (Berl. klin. Wochenschr. 1892. Nr. 29.) — Zieler, Gonokokken-Allgemeinerkrankungen. (Med. Klin. 1912. Nr. 6.).

Versuch der Anordnung der WaR. nach der Methode von Kaup, nebst praktischen Anweisungen für Massenanwendung derselben.

[Aus dem Laboratorium der zentralen Arbeiterpoliklinik zu Kiew.]

Von Prof. **M. G. Beniasch** und **G. M. Fraenkel.**

Die Methode von Kaup kann mit Recht allen anderen Modifikationen der WaR. vorangestellt werden, denn es ist diejenige Methode, welche am besten die Eigenschaften und Verhältnisse aller Ingredientien der Reaktion in Betracht nimmt. Die Methode von Kaup bestimmt mit einer absoluten Genauigkeit die aktive Menge des Komplements, welche an der Reaktion teilnimmt: als Ausgangsmenge dient die „Komplementeinheit", d. i. die minimale hämolysierende Menge des Komplements, welche mit Inbetrachtnahme der antikomplementären Wirkung von Normalserum und Extrakt bestimmt wird. Die Einführung in den Versuch von steigenden Komplementmengen ermöglicht eine genaue quantitative Beurteilung der Reaktion. Das System der Serumkontrollen zeigt mit einer maximalen Genauigkeit die selbsthemmenden Eigenschaften eines jeden Versuchsserums. Eine große Genauigkeit verleiht die Methode von Kaup auch der Bestimmung der Arbeitsdosis des Extraktes, bei dessen Titration nicht nur seine antikomplementären, sondern auch seine hämotoxischen Eigenschaften mitberechnet werden.

Das von Graetz und Schwabe in die Kaupsche Methode eingeführte Verfahren, welches darin besteht, daß das erste Stadium der Reaktion bei konsekutiv steigenden Temperaturen — zwischen 6° C und 37° C — ausgeführt wird, und dadurch hervorgerufen ist, daß die Fähigkeit der Seren, eine Vereinigung mit dem Extrakt einzugehen, in einer individuell verschiedenen Abhängigkeit von der Temperatur steht, nivelliert diese individuellen Eigenschaften der Seren.

Inwiefern andere, auf demselben Prinzip der Austitrierung des Komplementes aufgebaute Methoden (Boas, Sormani, Sonntag) die Komplementdosis nur mit einer geringeren oder größeren Annäherung zur Komplementeinheit, d. h. zu einer in ihrer Bedeutung streng unwandelbaren und absoluten Größe bestimmen; inwiefern auch die Methode von Kaup möglichst voll die antikomplementären Eigenschaften des Extraktes und eines jeden der zu untersuchenden Sera in Betracht nimmt, insofern muß diese Methode a priori als die am besten

begründete und genaueste anerkannt werden. Die Angaben der Autoren, welche die Methode von Kaup angewendet haben, bestätigen diese aprioristische Annahme (Blank, Gross, M. Stern). Zeissler gibt auf Grund seines Materials (etwa 5000 Sera) dieser Methode entschieden den Vorzug vor allen anderen Methoden. „Eigene Erfahrung", sagt er, „hat den Verfasser die Ueberzeugung gewinnen lassen, daß die Kaupsche Methode nicht nur die nach dem heutigen Stande unserer serologischen Technik schärfste, zugleich zuverlässigste und darum leistungsfähigste Ausführungsform der Komplementbindungsmethode zum serologischen Luesnachweis ist, sondern wahrscheinlich überhaupt den Höhepunkt der technischen Entwicklungsmöglichkeit dieses Untersuchungsverfahrens darstellt, solange es mit den jetzt üblichen Extrakten arbeitet"[1]).

Bei allen diesen Eigenschaften hat die Kaupsche Methode — trotz ihres achtjährigen Bestehens — keine verbreitete Anwendung gefunden. In Deutschland wird sie nur in einzelnen serologischen Laboratorien angewandt; in Rußland ist sie nicht in die Praxis der Laboratorien eingeführt. Es soll jedoch bemerkt werden, daß in den russischen Laboratorien die Methode der Austitrierung des Komplements für die WaR. schon längst als Regel gilt; einige Methoden der Austitrierung des Komplements mit Einschätzung der antikomplementären Eigenschaften von Serum und Extrakt (P. Maslakowetz, S. Jakubowitsch) ergeben im Vergleich mit der Originalmethode eine größere Bestimmtheit und Genauigkeit in dieser Grundfrage der Methodik der WaR.

Der Umstand, daß die Resultate der WaR. nicht immer mit den klinischen Angaben zusammenfallen, und daß auch vielfach bei Anwendung dieser Methode verschiedene Resultate mit ein und demselben Serum erzielt werden, erweckte bereits in den ersten Jahren die Frage, auf welche Weise eine größere Genauigkeit der Methode zu erzielen wäre, und es wurde eine Reihe von Modifikationen der ursprünglichen Methode vorgeschlagen. In den letzten Jahren ist diese Frage höchst aktuell geworden, und es werden ihrer Lösung die vereinigten Bemühungen der Serologen verschiedener Länder gewidmet. In Rußland ist eine Reihe Laboratorien seit dem vorvorigen Jahre aktiv mit dieser Frage beschäftigt, nachdem sie von Prof. Iwanoff in ihrer ganzen Bedeutung auf der 8. Allrussischen Tagung der Bakteriologen aufgeworfen wurde.

Die Logik diktiert einen bestimmten Ausgangspunkt bei der Lösung dieser Frage: als solcher soll diejenige der bereits existierenden Methoden angenommen werden, welche theoretisch die am besten begründete und praktisch die am meisten bewährte ist. Wie aus den oben angeführten Erwägungen folgt, kann als solche die Kaupsche Methode anerkannt werden. Ein einziger Umstand scheint jedoch ihrer allgemeinen Anwendung hinderlich zu sein: die relative technische Kompliziertheit der Methode und der damit zusammenhängende große Verbrauch von Reagentien (hauptsächlich Komplement). Die Aufgabe unserer vorliegenden Arbeit ist die praktische Erprobung dieser Methode und ihre Anpassung zur Massenanwendung.

Unser Versuch der Anwendung der Kaupschen Methode erstreckt sich auf 2600 Untersuchungen. Zur Reaktion gebrauchen wir alkoholisches spezifisches Antigen; das Komplement ist gemischt (von 4 bis

1) C. Brucks, Handbuch der Serodiagnose der Syphilis. 1924.

6 Meerschweinchen), das hämolytische Serum besitzt im Vergleich zum Titer eine fünfmalige Konzentration; rote Blutkörperchen in 3proz. Aufsschwemmung (3,0 ccm Präzipitat ausgewaschener roter Blutkörperchen in 100,0 ccm physiol. Kochsalzlösung). Die Ingredientien der Reaktion werden in Mengen von 0,25 ccm verwendet. Im 1. Stadium der Reaktion werden die Gemische je eine halbe Std. bei 6° C (im Eisschrank), bei Zimmertemperatur und im Brutschrank (37° C) gehalten.

Die Beurteilung der Reaktion wird zweimal ausgeführt: $^1/_2$ und $1^1/_2$ Std. nach Zugabe zu den Gemischen der sensibilisierten roten Blutkörperchen; in der Zwischenzeit werden die Gemische bei Zimmertemperatur gelassen.

In der Tab. I sind die Werte der Komplementeinheiten (KE) bei verschiedenen Anordnungen verzeichnet.

Tabelle I.

Größe der KE	0,14	0,13	0,12	0,11	0,10	0,09	0,08	0,07
Anzahl der Anordnungen	2	3	8	5	14	7	8	1

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß KE kein einziges Mal die bei der Originalmethode verwendete Komplementdosis (0,25) erreichte; sogar bei komplementarmen Seren überstieg sie die Hälfte nur um ein Weniges, in der Mehrzahl der Fälle erreichte sie $^1/_2$—$^1/_3$ dieser Menge. Vice versa, in der Originalmethode der WaR. beteiligt sich das Komplement an der Reaktion mit einer Menge von 2—3 Einheiten und, wenn 1—2 Komplementeinheiten gebunden werden, bleibt noch eine für die Hämolyse genügende Menge übrig.

Von bezeichnender Bedeutung ist auch die Verrechnung der Komplementdosis, welche durch Antigen und Normalserum gebunden wird. Nach unseren Ergebnissen bildet sie im Durchschnitt 34 Proz. der Menge der KE und variiert dabei in breiten Grenzen (zwischen 14 Proz. und 60 Proz.). Erwägen wir dabei, daß wir diese Ergebnisse nicht mit einzelnen Seren, sondern mit Serumgemischen von mehreren Meerschweinchen erhalten, so wird die Notwendigkeit einer Austitrierung des Komplements mit genauer Berechnung seines Deviabilitätsgrades, wie dies mit genügender Fülle nur nach Kaups Methode geschieht, augenscheinlich; das Verfahren der Austitrierung des hämolytischen Systems nach der Originalmethode erweist sich als ungenügend.

Die Resultate unserer Untersuchungen sind in Tab. II dargestellt.

Tabelle II.
Gesamtzahl der Untersuchungen 2600, Anzahl der positiven Reaktionen 896 (34,5 Proz.).

Anzahl der gebundenen KE	1—$1^1/_2$	2	3–4
Gesamtzahl der positiven Reaktionen	337	124	435
Anzahl der klinisch bestätigten Reaktionen	260 (77,4 Proz.)	117 (94,4 Proz.)	432 (99,3 Proz.)
Anzahl der Reaktionen mit unbestimmten klinischen Angaben	71 (21,0 Proz.)	6 (4,8 Proz.)	3 (0,7 Proz.)
Anzahl der unspezifischen Reaktionen	6 (1,6 Proz.)	1 (0,8 Proz.)	0 0

In der Tab. II sind separat die positiven Reaktionen mit Bindung von 1—$1^1/_2$ und 2 Komplementeinheiten angeführt (337 + 124): es sind

dies Reaktionen, die nach der oben angeführten Berechnung bei Anwendung der Originalmethode zum großen Teil nicht entdeckt worden wären. Mit 56 Seren dieser 2 Gruppen haben wir den Versuch einer nachträglichen Anordnung nach der Originalmethode ausgeführt. Resultat: 16 positive Reaktionen, 40 negative oder unbestimmte. Nehmen wir dasselbe Verhältnis für die Gesamtzahl der positiven Reaktionen mit Bindung bis zu 2 Komplementeinheiten an, so haben wir 333 positive Reaktionen mehr, als bei Anwendung der Originalmethode. Im Verhältnis zur Gesamtzahl der Untersuchungen macht dies 12,8 Proz. aus; diese Größe kann mehr oder weniger als Maß der relativen Sensibilität beider Methoden dienen.

Der diagnostische Wert der Reaktionen mit Bindung von 1—$1^1/_2$ KE, welche mit Zuhilfenahme der Kaupschen Methode entdeckt werden, wird nach deren Spezifitätsgrad gemessen. Auf diese letzte Frage können unsere Ergebnisse, welche an poliklinischem Material gesammelt sind, keine erschöpfende Antwort geben. In der Mehrzahl der Fälle (77,4 Proz.) konnte jedoch Syphilis bei den Kranken festgestellt werden; 21,0 Proz. betreffen Fälle mit unbestimmten anamnestischen und klinischen Angaben, wobei in einem bedeutenden Teile dieser Fälle eine Ansteckungsmöglichkeit hervorgehoben wird (Syphilis des anderen Ehegatten, der Eltern), im anderen Teile das ursprüngliche Resultat der Reaktion durch 2—3malige Nachuntersuchung während mehrerer Wochen bestätigt wurde. In 6 Fällen (1,6 Proz. und im Verhältnis zur Gesamtzahl der Untersuchungen 0,23 Proz.) konnte mit großer Wahrscheinlichkeit ein unspezifischer Charakter der Reaktion angenommen werden. Resultate, welche den unsrigen nahestehen, hat Kaup an klinischem Material erhalten: 5 unspezifische schwachpositive Reaktionen bei 1293 Untersuchungen. Wir müssen also zugeben, daß bei schwachpositivem Ausfall der Reaktion nach der Kaupschen Methode unspezifische Reaktionen in einzelnen Fällen nicht ausgeschlossen werden können. Es muß aber auch anerkannt werden, daß die schwachpositiven Reaktionen praktisch besonders wertvoll sind, da sie größtenteils gerade in jenen Stadien und Formen der Syphilis auftreten, wo klinische Zeichen keine genügende Grundlage für die Diagnose abgeben, ja, wo sie ganz fehlen (Primäraffekt, Mehrzahl der Fälle von tertiärer Syphilis, latente Syphilis). Eine Methode, der solche schwache Reaktionen (bei bedeutendem Vorherrschen von Reaktionen spezifischen Charakters) nicht entgehen, verdient den Vorzug vor Methoden, welche nur mit Seren, die eine große Menge syphilogener Körper enthalten, positive Reaktionen zu geben imstande sind.

Die Spezifität der Reaktion bei Bindung von 2 KE ist in 117 Fällen von 124 (94,4 Proz.) bestätigt worden; in 6 Fällen ist Syphilis nicht festgestellt, aber auch nicht ausgeschlossen; in einem Falle kann die Reaktion als unspezifisch aufgefaßt werden (Fall von Leberkarzinom).

Bei 435 Fällen positiver Reaktion mit Bindung von 3—4 KE ist die Spezifität der Reaktion in 432 (99,3 Proz.) festgestellt; die übrigen Fälle sind klinisch nicht kontrolliert worden. Es wächst also die Beweiskraft der positiven Reaktion mit der Stärke derselben, welche nach der Anzahl der gebundenen Komplementeinheiten gemessen wird. Auch in dieser Hinsicht verdient die Kaupsche Methode den Vorzug vor der Originalmethode, da sie in einer bedeutenden Anzahl der Fälle mit positivem Ausfall der Reaktion (bis 50 Proz. nach unseren Ergebnissen) Komplementbindung in Mengen, welche 2 KE übertreffen, gibt. Es

sollte als Grundsatz gelten, daß die Einführung des Prinzips einer quantitativen Bestimmung der Reaktionsstärke (Boas, Sormani, Kaup) in die Technik der WaR. ein Fortschritt auf dem Wege der Verfeinerung dieser Reaktion ist.

In direktem Zusammenhang mit der Zunahme der Anzahl positiver Reaktionen steht die Steigerung des diagnostischen Wertes des negativen Ausfalls der Reaktion. Auch in dieser Hinsicht verdient die Kaupsche Methode den Vorzug. Im Bestreben, dem negativen Ausfall der Reaktion eine möglichst große Beweiskraft zu verleihen, schlägt Griesbach[1]) sein eigenes aktives Verfahren vor, das einen größeren Prozentsatz positiver Reaktionen gibt als die Methode von Kaup. Jedoch gibt dieser Autor selbst bis 8 Proz. unspezifische Resultate an und spricht seiner Methode nur den Wert einer Ergänzung der Kaupschen Methode zu. Es ist eine ungesunde Tendenz, von einer Methode mehr zu verlangen, als sie geben kann. Auch ist es nicht nötig, die WaR. durch spezielle Ergänzungsmethoden zu komplizieren: ein größerer Prozentsatz positiver Reaktionen wird auch mit der Kaupschen Methode erzielt, wenn die Fälle von Komplementbindung von weniger als einer Einheit mitberechnet werden. Der Prozentsatz unspezifischer Reaktionen erscheint dabei — wie unsere vorläufige Berechnung zeigt — auch bedeutend geringer, als mit der Methode von Griesbach. Was nun den diagnostischen Wert der negativen Reaktionen bei der Kaupschen Methode anbetrifft, so kann eine hochgradige Beweiskraft denjenigen Fällen zuerkannt werden, in welchen keine Spur einer Hämolysehemmung zu beobachten war.

Die Ausführung der Reaktion mit verschiedenen Komplementmengen nach der Kaupschen Methode ist noch in dem Sinne vorteilhaft, daß dadurch jeder Möglichkeit eines Mißlingens des Versuches vorgebeugt wird. Ein solcher Ausgang der Reaktion mit einzelnen Seren wird bei dem Originalverfahren nicht selten beobachtet und ist durch die stark ausgesprochenen antikomplementären Eigenschaften dieser Sera bedingt. Meistens sind dies die chylusreichen Seren von Säuglingen. In diesen Fällen kann das Resultat der Reaktion eine vollständige Hemmung der Hämolyse sein — im Versuch ebensogut wie in der Serumkontrolle. Bei Anwendung der Kaupschen Methode ist ein solches Resultat seltener, da größere Komplementmengen an der Reaktion teilnehmen. Aber auch in diesen seltenen Fällen wird durch nachträgliche Anordnung der Reaktion mit Einführung größerer Komplementmengen (5 bis 6 KE im Versuch, 3—4 KE im Kontrollserum) die Beurteilung der Reaktion ermöglicht.

Seltener, aber dennoch unvermeidlich sind die Fälle, wo das Mißlingen der Untersuchung nach der Originalmethode sich auf die ganze Serie der Seren des gegebenen Tages erstreckt. Die Ursache eines solchen Ausfalles des Versuches ist in diesen Fällen in der ungewöhnlich hohen Deviabilität des Komplements zu suchen. Diese Eigenschaften des Komplements entgehen dem Untersucher bei Austitrierung des hämolytischen Systems nach der Originalmethode, was ein Mißlingen des ganzen Versuchs ermöglicht. Wir erlebten ein solches Mißlingen im Anfang unserer Arbeit mit der Kaupschen Methode. In diesem Falle erzeugte das Komplement (ein Gemisch von 5 Seren), dessen minimale hämolysierende Menge 0,05 betrug, in Gegenwart von Normalseren

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1925, Nr. 15.

und Extrakt eine Hemmung noch in der Menge von 0,2. Dabei war die Hämolysehemmung mit Komplementmengen zwischen 0,1 und 0,2 eine sehr schwache, was uns dazu bewog, als Komplementeinheit 0,1 anzunehmen. Als Resultat der Untersuchung wurde bei allen Versuchen (im ganzen 35 Sera) eine Hämolysehemmung notiert, mit der Mehrzahl der Seren bis 4 KE. Letzterer Umstand beweist, daß die Ursache der Hämolysehemmungen nicht in der ungenügenden Menge des Komplements, welche als Einheit angenommen wurde, zu suchen ist, sondern in der Unbrauchbarkeit des Komplements selber. Daß ein solcher Ausgang des Versuchs nicht vom Extrakt abhängt, ist aus der Tatsache ersichtlich, daß eine bedeutende Hämolysehemmung (bis $1^1/_2$ KE) auch in der Mehrzahl der Serumkontrollen auftrat. Ein direkter Beweis der Unbrauchbarkeit des Komplements wurde durch das Resultat einer Untersuchung nach der Kaupschen Methode erbracht, welche in einem anderen Laboratorium am selben Tage mit einem anderen Komplement und den gleichen Extrakten und hämolytischem Serum ausgeführt wurde. Das Resultat der Untersuchung in diesem Laboratorium fiel normal aus. Dieser Fall ist sehr bemerkenswert: er ist ein schlagendes Beispiel der Schwankungen des Deviabilitätsgrades der Komplemente nicht nur in einzelnen, sondern auch in Sammelseren; er lehrt uns auch, daß durch solche Eigenschaften das Komplement ganz unbrauchbar wird.

Die technische Kompliziertheit der Kaupschen Methode, wie auch sonst der quantitativen Methoden der WaR. stellt ein Hindernis für ihre Massenanwendung dar. Dieselbe Kompliziertheit der quantitativen Methoden zwang ihre Autoren, auf die Anwendung mehrerer Antigene bei Anordnung der Reaktion zu verzichten, wie dies von Anfang an üblich war und noch jetzt von der Mehrzahl der Autoren als notwendig erachtet wird. Uebrigens sind die Autoren der quantitativen Methoden (Boas, Sormani, Kaup) der Meinung, daß die Anwendung mehrerer Antigene für die Reaktion auch an sich überflüssig sei, und beweisen diese Ansicht an einem großen und genügend überzeugenden Material. Auch die Kopenhagener Konferenz stimmte dafür, daß mit einem einzigen Antigen gearbeitet werden könne. Man kann sagen, daß die Frage, ob für die Reaktion eins oder mehrere Antigene angewendet werden sollen, gegenwärtig ihre Aktualität verloren hat. Inwiefern jedoch noch bis jetzt eine große Anzahl verschiedener (je nach Ausgangsmaterial und Art der Bereitung) Extrakte existiert, und es kein bestimmtes Extrakt gibt, das selbst von den Autoren, welche behaupten. ein einziges Antigen genüge für die Anordnung der WaR., adoptiert wäre, und solange letztere Ansicht noch nicht allgemein anerkannt ist, glauben wir, daß die Möglichkeit, gleichzeitig das quantitative Prinzip bei Anordnung der WaR. anzuwenden und mehrere Antigene (wenigstens zwei) in die Reaktion einzuführen, die quantitativen Methoden wirklich auf die für unsere Zeit höchste Stufe technischer Vervollkommnung der WaR. erheben würde.

Wir stehen also vor der Aufgabe, die Technik der Kaupschen Methode so weit zu vereinfachen, daß dieselbe sogar bei Einführung noch eines Antigens in die Reaktion nicht zu kompliziert und für Massenanwendung geeignet ist. Diese Aufgabe kann nur unter einer Bedingung befriedigend gelöst werden: die Vereinfachung der Technik der Reaktion darf nicht auf Kosten ihrer Genauigkeit geschehen, d. h. soll nicht durch Veränderungen in der Methode selbst, sondern nur

durch Veränderungen des Verfahrens bei Anordnung der Reaktion erzielt werden. Es können kaum jene neuesten Methoden als befriedigende Lösung der Frage angesehen werden (insbesondere die Staatliche Anleitung für die Ausführung der WaR. 1919), welche der Sparsamkeit an Arbeit und Ingredientienverbrauch die Grundprinzipien der Methodik zum Opfer bringen: die genaue Bestimmung der Arbeitsdosis des Komplements und die Graduierung der Intensität der Reaktion.

Weiter unten wollen wir einige praktische Handgriffe beschreiben, welche, ohne die Grundlagen der Kaupschen Methode zu beeinträchtigen, zu deren bedeutenden technischen Vereinfachung und Ersparung an Reagentien führen und die Einführung in die Reaktion von noch einem Antigen erlauben.

Die relative technische Kompliziertheit der Kaupschen Methode besteht in der Kompliziertheit der Technik der Austitrierung des Komplements (4 Gemischreihen mit verschiedenen Komplementmengen in jedem Gemisch) und der Anordnung des Versuches selber (5 Gemische für den Versuch und 3 für die Serumkontrolle).

Was das erste Moment anbetrifft, so läßt Kaup selbst eine Vereinfachung zu — durch Ausschluß der zwei intermediären Reihen. Für die Bestimmung der Größe der KE haben diese 2 Reihen in der Tat keine entscheidende Bedeutung, und für rein praktische Ziele kann eine solche Vereinfachung sehr gut zugelassen werden. Unserer Ansicht nach müssen jedoch diese Reihen da, wo es möglich ist, beibehalten werden, da ohne sie das Gesamtbild der Verhältnisse zwischen Komplement, Extrakt und Serum leidet. Die genaue Analyse dieser Verhältnisse gibt dem Untersucher jedesmal eine handgreiflich deutliche Vorstellung von dem ganzen Gange der Reaktion und verleiht seinen Betrachtungen auf diesem Gebiete eine gewisse Gesetzmäßigkeit. Jeder, der von der ursprünglichen Methode der WaR. zu der Kaupschen Methode übergegangen ist, wird wohl mit uns darin übereinstimmen, daß die Arbeit nach jeder dieser Methoden dem Bewußtsein des Untersuchers eine verschiedene subjektive Färbung verleiht: diejenige einer gewissen Unbestimmtheit und reinen Empirismus bei der Arbeit nach der ersten Methode, und der Deutlichkeit und Gewißheit bei Benutzung der Methode von Kaup. Die Methode der Titration des Komplements nach Kaup ist eine analytische und synthetische Methode. Sie zeigt uns die Vielgestaltigkeit individueller Eigenschaften der Ingredientien der Reaktion, deren gegenseitige Wirkungsweise und deren Einfluß auf den Verlauf der Reaktion. Das Material, das sich als Resultat einer solchen Analyse anhäuft, kann höchst wertvoll erscheinen sowohl für einen tieferen Einblick in den Mechanismus der Reaktion, als auch für die Verfeinerung ihrer Methodik. Von diesem Standpunkt aus soll, nach unserer Ansicht, das Schema der Titrierung des Komplements, wo nur irgend möglich, in seinem ganzen Umfange ausgeführt werden.

Auf Grund unserer Erfahrungen kamen wir zu einem anderen Verfahren der Vereinfachung dieses Moments: nämlich, wir verringern die Anzahl der Gemische, indem wir aus jeder Reihe die äußersten Gemische ausschließen. Die minimale hämolysierende Komplementmenge im hämolytischen System (I. Reihe) schwankt nach unseren Angaben in Grenzen zwischen 0,1 und 0,04, die hämolysierende Komplementmenge in Gegenwart von Normalserum (II. Reihe), Extrakt (III. Reihe) und Gemisch Serum-Extrakt (IV. Reihe) in Grenzen zwischen 0,14—0,07.

Davon ausgehend, begnügen wir uns für die I. Reihe mit 8 Gemischen mit absteigenden Komplementmengen von 0,15—0,03 und für die anderen Reihen mit je 6 Gemischen mit Komplementmengen von 0,15 bis 0,05. Die Anzahl der Gemische fällt somit von 44 auf 26.

Was den Versuch anbetrifft, so läßt er sich sehr bedeutend vereinfachen, wenn die Reaktion, wie wir in der letzten Zeit verfahren, in zwei Teilen ausgeführt wird. Folgende Berechnung führte uns zu diesem Verfahren. Auf 2600 Untersuchungen kommen 549 positive Reaktionen mit Bindungen von 2 und mehr Komplementeinheiten, d. h. etwas über $^1/_5$; was die Serumkontrollen anbetrifft, so fand Hämolysehemmung mit Bindung von 1 und mehr KE nur in 22 Fällen statt. Es erscheint deshalb verschwenderisch, den Versuch mit allen Sera in vollem Maßstabe auszuführen. Wie unsere Erfahrung zeigt, wird eine große Ersparnis sowohl an Arbeit als an Reagentien durch folgende Anordnung der Reaktion erzielt. Der Versuch wird nur mit 3 Komplementmengen ausgeführt: 1, $1^1/_2$ und 2; die Serumkontrolle nur mit 1 KE. Auf diese Weise wird die Anzahl der Gemische auf die Hälfte vermindert, die Menge des Komplements, welche für jede Untersuchung erforderlich ist, fällt von 16 auf $5^1/_2$ Einheiten. Die Reaktion mit 3 und 4 KE wird nur mit den Seren nachträglich ausgeführt, welche im Versuch 2 KE vollständig gebunden haben, mit Serumkontrollen mit $1^1/_2$ und 2 KE — in den ausnahmsweise seltenen Fällen —, wo das Serum für sich allein 1 KE vollständig, und im Versuche mehr als diese Menge gebunden hat. Ein solches Verfahren hat sich bei Massenversuchen vollkommen bewährt. Es vereinfacht um ein so Vieles die Technik der Arbeit, daß die Arbeitszeit wenigstens um $^1/_3$, die verbrauchte Komplementmenge wenigstens um die Hälfte vermindert wird, trotzdem daß zum Grundversuch eine nachträgliche Versuchsanordnung nötig ist.

Die Vereinfachung der Methodik erlaubt, in den Versuch noch ein Antigen einzuführen. Nach Bestimmung der Größe der Komplementeinheit für dieses Antigen (noch eine Reihe im Schema der Komplement-Titrierung, welche der Reihe IV entspricht) führen wir dasselbe in 2 nachträgliche Gemische des Versuchs — mit 1 und 2 KE — ein.

Eine bedeutende Verkürzung der Arbeit wird auch durch die Veränderung der Technik der Verteilung des Komplements erzielt. Kaup verteilt das unverdünnte Komplement in für jedes Gemisch verschiedene Mengen und setzt den Gemischen verschiedene, entsprechend große Mengen physiologischer Kochsalzlösung zu. Die Ausführung dieser 2 Momente erfordert strenge Aufmerksamkeit und nimmt relativ viel Zeit in Anspruch. Wir verdünnen das Komplement im voraus in 5 verschiedenen Verdünnungen, so daß in 0,25 ccm der Verdünnung eine entsprechende Menge Komplementeinheiten enthalten ist, und füllen je 0,25 ccm jeder Verdünnung in die entsprechenden Reihen des Versuchs und der Kontrollen ein.

Tab. III stellt das von uns geübte Verfahren der Vorbereitung von Komplementverdünnungen dar. (Tab. III siehe S. 185.)

Die Verdünnungen des Komplements, welche 1, $1^1/_2$ und 2 KE enthalten, werden, wie aus der Tabelle ersichtlich, in doppelten Mengen bereitet, da diese Komplementverdünnungen sowohl für den Versuch wie für die Serumkontrolle nötig sind.

Tabelle III.
(Die angenommene KE = 0,1 von Serum 1:10 oder 0,01 unverdünnten Serums. Die angenommene Anzahl der zu prüfenden Seren = 10.)

Komplement-verdünnung	Anzahl der KE	Serum unverdünnt	Physiologische Kochsalzlösung
Nr. 1	1	0,2	4,8
„ 2	$1^1/_2$	0,3	4,7
„ 3	2	0,4	4,6
„ 4	3	0,3	2,2
„ 5	4	0,4	2,1

Zum Schluß wollen wir noch eine Grundfrage erörtern, nämlich: die Frage des diagnostischen Wertes der WaR. Die Kritik dieser Methode wird gewöhnlich auf zwei Sätzen aufgebaut: 1. im Gegensatz zu den Immunkörperreaktionen widersprechen die Ergebnisse der WaR. öfters den klinischen Angaben, 2. die Quelle solcher falschen Resultate ist in der biologischen Natur der Reaktion selbst zu suchen, welche eine unspezifische Reaktion ist, und nur in zweiter Linie in der Unvollkommenheit der Methodik. Eine solche Gegensetzung der WaR. den Immunkörperreaktionen sowohl nach dem praktischen Wert, als auch nach dem biologischen Wesen derselben, hat keine genügende tatsächliche Begründung. Unspezifische Resultate werden auch im Gebiet der Immunkörperreaktionen beobachtet, insbesondere der Reaktionen der Komplementbindung. Ebenso kann der unspezifischen WaR. bei Schwangerschaft die unspezifische Agglutinationsreaktion gegenübergestellt werden, welche das Serum Schwangerer mit dem Bac. dysenteriae V — mit einzelnen Stämmen in 90 Proz. der Fälle — gibt. Unbewiesen ist auch der Satz, daß die WaR. ihrem Wesen nach eine unspezifische Reaktion sei. Die Grundtatsache dieser Lehre — der untrennbare Zusammenhang zwischen der wirkenden Substanz des syphilitischen Serums und seinen Globulinen — ist auch für die spezifischen Körper der Immunsera erwiesen, und diese Tatsache erlaubt ebensowenig die Identifizierung der syphilogenen Körper mit den Globulinen, wie sie die Identifizierung der Globuline mit den Antitoxinen, Agglutininen und anderen Immunkörpern erlaubt. Andererseits hat die Lehre über die WaR. als spezifische Immunkörperreaktion in der neuesten Zeit eine bedeutende Bekräftigung gefunden in den Versuchen der Immunisation von Kaninchen mit gemischten eiweiß-lypoidhaltigen Antigenen[1]).

Bei der äußersten Unklarheit und Verwirrtheit der Angaben, welche die Genese und den Mechanismus der WaR. betreffen, muß die Lösung der Frage des Grades ihrer diagnostischen Beweiskraft nicht auf dem Gebiete theoretischer Betrachtungen gesucht werden, sondern in der Richtung weiterer Verfeinerung ihrer Methodik, und als Ausgangspunkt für weitere Bestrebungen soll die Kaupsche Methode anerkannt werden, welche auf einer detaillierten Analyse der Eigenschaften und Verhältnisse aller Ingredientien der Reaktion aufgebaut ist.

1) Sachs, Klopstock und Weil, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 15 und 25.

Agglutinatorische Einteilung von Pyocyaneus-Bazillen, welche bei verschiedenen Menschenerkrankungen nachgewiesen wurden.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor Prof. Dr. A. Aoki).]

Von Prof. Dr. **K. Aoki.**

Wenn auch schon ausführliche Mitteilungen über viele Stämme Pyocyaneus-Bazillen von Jacobsthal gemacht worden sind, so ist doch deren agglutinatorische Untersuchung noch nicht ausführlich genug gewesen. Trommsdorff machte daraufhin bei seinen Untersuchung über die agglutinatorischen Beziehungen zwischen B. pyocyaneus und Fluorescens-Bazillen folgende Beobachtung: Er untersuchte nämlich im ganzen 27 Stämme von Pyocyaneus-Bazillen, welche als Reinkultur von verschiedenen Seiten bezogen worden waren, in 4 Pyocyaneus-Seren agglutinatorisch; sie waren mit 4 ihrer Stämme hergestellt. Dabei ist es ihm gelungen, sie in 5 Gruppen einzuteilen. Doch findet man unter den Stämmen, welche von ihm agglutinatorisch als zu einer und derselben Gruppe gehörig angenommen worden waren, noch solche, welche viel niedriger als der Titer des Serums beeinflußt wurden. Infolgedessen weiß man eigentlich noch nicht, ob die Stämme, welche von ihm agglutinatorisch als einer Art angehörig angenommen worden waren, nicht in noch mehr Gruppen eingeteilt werden können.

Klienberger konnte schon vor ihm nachweisen, daß die Agglutinierbarkeit der Pyocyaneus-Bazillen je nach den Stämmen sehr verschieden erscheint. Hier möchten wir unsere Beobachtungen hinzufügen: Unsere Stämme wurden seit 1906 hier in meinem Institute aus Krankenmaterial herausgezüchtet. Es waren im ganzen 94. Darunter wurden bis jetzt 50 Stämme zur Untersuchung herangezogen. Die übrigen Stämme werden später untersucht werden. Zuerst soll die Herkunft dieser 50 Stämme angegeben werden: 9 Stämme wurden aus verschiedenem Harn, 2 aus dysenterischem Kot, 20 aus Eiter, und zwar 5 aus Empyem, 5 aus Otitis media, 6 aus Mastoiditis, 1 aus Empyema Highmori, 1 aus Osteomyelitis, 1 aus Actinomyces und 1 aus Salpingitis; 1 Stamm aus Geschwulstmasse, 1 aus Sputum und 2 aus Blut gezüchtet. Dazu wurden noch 15 Stämme Reinkultur hinzugefügt, bei welchen keine genauere Herkunft angegeben war. Doch stimmten sie insofern mit den anderen überein, als sie auch aus Eiter gezüchtet worden waren.

A. Morphologisches.

Kurze Stäbchen, bei denen nicht so große Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen nachgewiesen wurden, wie bei Jacobsthal. Polare Geißeln fehlten gewöhnlich, manchmal waren 2, ja sogar 3—4, selten 5 vorhanden. Doch wurden keine Stämme nachgewiesen, welche büschelförmig begeißelt sind, wie dies Burckhardt bemerkte. Sie waren alle gramnegativ.

B. Kulturelles.

1) Lackmusmolke wurde bei allen Stämmen nach 20 Std. ziemlich rot, fing dann allmählich an blau zu werden, bis sich dann nach einer Woche auf ihrer Oberfläche eine blaue Haut bildete. Dabei war fast kein Unterschied zwischen den einzelnen Stämmen nachweisbar. Nur bei 2 Stämmen blieb dieser Farbenumschlag selbst nach 21 Tagen ganz aus. 2) Auf Kartoffel bildeten sie fast ohne Ausnahme einen saftigen, anfangs graugelblichen, später braunen Belag. Bei einigen Stämmen wurde jedoch beobachtet, daß die Umgebung dieses Belages sich tief grün verfärbte. 3) Traubenzucker wurde von keinem vergoren. 4) Bouillon wurde von allen Stämmen stark getrübt, Häutchenbildung und Farbstoffbildung war nachweisbar. 5) Dabei wurde Indolbildung nicht nachgewiesen. Bei einigen Stämmen war sie angedeutet. 6) Auf Schrägagar bildeten die meisten Stämme einen saftigen Belag, von dem grüne oder grüngelbliche Verfärbung des Nährbodens ausging. Bei einigen Stämmen war ein metallisch glänzender Belag auf Agar nachzuweisen, so daß die Oberfläche der Kultur nicht mehr so feucht, sondern matt aussah. Diese Erscheinung wurde auch von Jacobsthal beobachtet. 7) Auf Gelatine wuchsen sie gut. Doch war die Verflüssigung bei vielen Stämmen ziemlich verschieden: bei einem Teile der Stämme war sie stark, bei einem anderen schwach, wieder bei einem anderen noch schwächer und endlich beim letzten gar nicht vorhanden. Dieses Verhalten konnte Jacobsthal auch nachweisen. 8) Das Wachstumsverhalten in Milch war ebenfalls verschieden: bei 30 Stämmen wurde Milch von Anfang an peptonisiert. Dabei wurde keine Gerinnungserscheinung nachgewiesen. Aber bei den anderen 13 Stämmen war weder Peptonisierung noch Gerinnungserscheinung, selbst nach 3 Wochen, aufgetreten. Ausnahmsweise wurden die beiden Prozesse bei einigen Stämmen gleichzeitig nachgewiesen. Bei diesen Stämmen war die Peptonisierung sehr schwach, bei 1 Stamm war nur Milch geronnen. 9) Farbstoffbildung: Bei vielen Stämmen wurde typische Farbstoffbildung, nämlich parallele Pyocyanin- und Fluoreszenzbildung, nachgewiesen. Aber diese Farbstoffbildung änderte sich je nach den weiteren Umzüchtungen immer mehr, so daß zuerst die Pyocyaninbildung, dann allmählich die Fluoreszinbildung abnahm. Auf diese Weise wurde die Farbstoffbildung einerseits verändert, andererseits abgeschwächt, so daß man nach mehreren Umzüchtungen leicht farblose Kultur bekam. Doch wurden ab und zu bei Kranken Stämme nachgewiesen, welche von Anfang an undeutliche Farbstoffbildung zeigten.

C. Agglutinatorische Untersuchung.

Zuerst wurden mit 37 Stämmen Pyocyaneus-Bazillen ihnen entsprechende Immunsera bei Kaninchen hergestellt. Sie wurden in 7tägigen Intervallen, mit einer Dose von $^1/_5$—$^1/_2$ Agarkultur angefangen, dann immer ums Doppelte gesteigert, 4 oder 5mal vorbehandelt, Dann wurden Blutproben von Ohrvenen entnommen und der Agglutinationstiter geprüft. Dabei ergab sich, daß bei der Hälfte der Tiere der Titer 1:20000, bei der anderen Hälfte von 1:2000 bis 1:5000 stark auftrat. Dann wurden die Kaninchen verblutet. Diese Sera wurden getrocknet und im Dunkeln aufbewahrt, wie man das bei uns zu tun pflegt. Als sie daraufhin, wieder in Aqua gelöst, gebraucht wurden, zeigte sich der Titer im allgemeinen etwas abgeschwächt, so daß er bei 20 Sera 1:10000, bei 13 Sera 1:5000, bei 3 Sera 1:2000 und bei einem

Serum 1:1000 stark wurde. Mit diesen Seren wurden die ihnen entsprechenden 37 Stämme kreuzweise agglutiniert. Stämme, welche dabei gegenseitig bis zum Titer agglutinierten und ferner in anderen Seris fast gleiches Verhalten zeigten, wurden als eine agglutinatorische Einheit betrachtet und an einer Stelle zusammengestellt, wie man bei uns zu tun pflegt. Auf diese Weise wurden sie im ganzen in 18 agglutinatorische Einheiten geteilt und alphabetisch von a bis r bezeichnet (Tab. I): Die a-Gruppe enthält 6 Stämme (1, 3, 6, 9, 16, 26), die b-Gruppe

Tabelle

	Name der Bakterien	Name der												
		1	3	6	9	16	26	8	12	22	24	29	40	44
a	Pyo. 1	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	5000	100	100	100	100	100	100	100
	„ 3	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	5000	500	100	100	100	100	200	100
	„ 6	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	5000	1000	100	100	100	100	100	100
	„ 9	10 000	10 000	10 000	5 000	10 000	5000	100	100	100	100	100	100	100
	„ 16	5 000	5 000	10 000	5 000	10 000	5000	1000	100	200	100	200	100	100
	„ 26	10 000	5 000	10 000	10 000	10 000	5000	1000	200	200	500	200	2 000	1 000
b	„ 8	100±	100±	200	100—	100—	500	5000±	2000	2000	10 000	10 000±	10 000	5 000
	„ 12	100±	100±	200	100—	100—	1000	2000	5000	2000	10 000	5 000	10 000	10 000
	„ 22	100—	100—	500	100—	100—	500	2000	5000±	5000	10 000	10 000±	10 000±	5 000
	„ 24	100—	100—	200	100—	100—	200	2000	5000	5000±	10 000	5 000	10 000	5 000±
	„ 29	100—	100—	500	100—	100—	1000	2000	5000±	5000	10 000	10 000±	10 000	5 000
	„ 40	100—	100—	500	100—	100—	500±	2000	5000±	2000	10 000	5 000	10 000	5 000
	„ 44	100—	100—	500	100—	100—	500	1000	5000±	5000	10 000	5 000	10 000	2 000
c	„ 14	100—	1000±	100—	100—	100—	100—	100—	1000	100—	1 000	100—	2 000	2 000
	„ 25	100—	100—	500	100—	100—	200	200	2000	5000	1 000	100—	2 000	500
	„ 27	100—	100—	500	100—	100—	200	200±	2000	5000	1 000	100—	2 000	500
	„ 39	100—	1000±	100—	100—	100—	100—	100—	1000	100—	200	100—	2 000	500±
d	„ 2	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100	100—	100—	100—	100—	100
	„ 5	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
e	„ 28	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
	„ 31	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
	„ 35	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
f	„ 15	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	500±	100—	100—	100—	100
g	„ 17	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
h	„ 18	200	500±	200	500±	2000	1000±	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
i	„ 20	100—	100—	100—	100—	500	100—	100—	100—	100—	100	100—	100—	100
	„ 21	100—	100—	100—	100—	2000	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100
j	„ 23	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	200	100—	100—	100
k	„ 30	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100	100—	100—	100
l	„ 32	100	100±	100	200	100	500±	500	500	200	200	200	100—	500
	„ 34	100±	100±	1000	100	1000	100—	500±	500	200	200	500±	200	200
m	„ 33	100	100	500	100	100—	100	100—	100—	100—	100—	100—	100	100
n	„ 36	100—	100—	100—	100—	100—	100	100—	100—	100—	100—	100—	100	100
o	„ 37	100—	100—	100—	100	100—	100	100—	100—	100—	100—	500±	100	100
p	„ 42	100—	100—	500	100	100—	100	100±	100—	100—	100—	200	100	100
q	„ 43	100—	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—	100	100	100
r	„ 38	200	200	1000	200	100—	100	500	200	100	200	100	200	200

7 Stämme (8, 12, 22, 24, 29, 40, 44), c-Gruppe 4 Stämme (14, 25, 27, 39), d-Gruppe 2 Stämme (2, 5), e-Gruppe 3 Stämme (28, 31, 35), i-Gruppe 2 Stämme (20, 21) und l-Gruppe wieder 2 Stämme (32, 34). Die übrigen 11 einzelnen Gruppen, f, g, h, j, k, m, n, o, p, q, r, enthalten je 1 Stamm, nämlich 15, 17, 18, 23, 30, 33, 37, 42, 43, 38. Die Stämme, welche die a-Gruppe vertreten, agglutinierten gegenseitig gleich stark bis zum Titer, aber in allen übrigen Seren entweder ganz schwach und inkonstant oder fast gar nicht. Die Stämme, welche die b-Gruppe

darstellten, agglutinierten ebenfalls bis auf die eigenen Sera ebenso schwach wie die a-Gruppe-Bazillen. Sie wurden aber nur von den Seren der c-Gruppe konstant sehr stark mitagglutiniert, ferner in einem Serum der a-Gruppe ziemlich stark. Die c-Stämme wurden ebenfalls von den Seren der b-Gruppe sehr stark, aber inkonstant mitagglutiniert, so daß es manchmal schwer war, die beiden Stämme agglutinatorisch zu unterscheiden. Deshalb kann man annehmen, daß die b- und c-Gruppe miteinander sehr nahe verwandt sind. Sie wurden ferner in

I.

Immunsera

14	25	27	39	2	5	28	31	35	15	17	18	20	21
100	100—	100—	100—	100	100—	100—	100	100	100	100	200	100—	100
1000	100—	100—	200	200	100—	100—	100	100	100	100	200	100—	100
200	100—	100—	100—	100	100—	100—	100	100	100	100	200	100—	100
100	100—	100—	100—	100	100—	100—	100	100	100	100	200	100—	100
100	100—	100—	100—	200	100—	100—	100	100	100	100	200	100—	100
100	100—	100—	100—	200	100—	100—	100	100	100	100	500	100—	100
1000	1000	500	1000	100—	100—	100 -	100	100	100	100	100	100—	100
1000	2000	2 000	1000	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
1000	500	2 000	200	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
1000	500	1 000	200	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
1000	1000	1 000	200	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	200
1000	1000	1 000	200	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
1000	1000	1 000	200	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
10000	2000	5 000	5000	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	200	500
10000 ±	2000	10 000	5000	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
5000	5000 ±	10 000	5000	100—	100—	100—	100	100	100	100	500	100—	100
10000 ±	2000	10 000	5000	100—	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	10 000	10 000	100—	100	100	200	100	100	100—	100
100	100	100	100	10 000	10 000	100—	100	100	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	5000 ±	5000	2000	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	5000 ±	5000	2000	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	2000	2000	2000	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100 ±	100	10 000	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100 ±	100	100	5000	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	5000	100—	100
100	100	100	500	100	100—	100—	100	100	100	100	100	1000	5000
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	100	1000	5000
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
200	200	200	100—	100	100—	100—	100	200	500	500	500	100—	500
100	100	100	100—	100	100—	100—	500 ±	500	200	500	200	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	500	200	200	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	200	100	100	200	100	100—	100
100	100	100	100	100	100—	100—	100	100	100	100	100	100—	100
100	100	200	100	200	100—	1000	500	100	200	100	200	100	200

den Seris der übrigen Gruppen nur ausnahmsweise ziemlich stark, sonst fast gar nicht reagiert (Tab. I). Die Stämme aus den übrigen Gruppen wurden bis auf die Sera aus den eigenen Gruppen gegenseitig viel schwächer als der Titer beeinflußt, so daß diese Gruppen einzeln als selbständig, und zwar wenig verwandt betrachtet werden können. Doch wurde eine Abweichung bei 2 Gruppen bemerkt. Die Stämme der l-Gruppe wurden nämlich merkwürdigerweise in fast allen Seris, wenn auch viel schwächer als der Titer, doch ziemlich konstant beeinflußt. Dabei

Tabelle I (**Fortsetzung**).

Name der Bakterien		Name der Immunsera									
		23	30	32	34	33	36	37	42	43	38
a	Pyo. 1	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 3	100	500±	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 6	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 9	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 16	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 26	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
b	„ 8	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 12	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 22	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 24	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 29	100	500	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 40	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 44	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
c	„ 14	100	2 000	500	100	100	500	100—	100—	100—	100—
	„ 25	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 27	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 39	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
d	„ 2	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 5	100	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
e	„ 28	100	100—	100	100	100	200	100—	100—	100—	100—
	„ 31	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 35	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
f	„ 15	100	100—	100	100	100	500	100—	100—	100—	100—
g	„ 17	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
h	„ 18	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
i	„ 20	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	100—	100—
	„ 21	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	200	100—
j	„ 23	10 000	100—	100	200	100	100	100—	100—	100—	100—
k	„ 30	100	10 000	100—	100	100	100	100—	500	100—	100—
l	„ 32	500	500	10 000	10 000	500	200	5000	100	100	100
	„ 34	500	·100	10 000	10 000	200	200	5000	200	1000	2 000
m	„ 33	100	200	100	200	10 000	100	100	100—	100—	100—
n	„ 36	100	100—	100	100	100	5000	100	100—	100—	100—
o	„ 37	100	100—	500	500	100	100	5000	100—	100—	100—
p	„ 42	100	100—	100	100	100	100	100—	10 000	100—	100—
q	„ 43	100	100—	100	100	100	100	100—	100—	5000	100—
r	„ 38	200	200	100	100	100	100	100—	100—	100—	10 000

ist hervorzuheben, daß sie im Serum der o-Gruppe sehr deutlich bis zum Titer agglutiniert wurden. Auf die gleiche Weise wurde der Stamm aus der o-Gruppe von den Seris der l-Gruppe etwas schwächer als der Titer, doch regelmäßig beeinflußt. Infolgedessen müssen die beiden Gruppen als sehr nahe verwandt angenommen werden. Aehnliche verwandtschaftliche Beziehungen zeigten die Gruppen a und h, wenn auch etwas schwächer, doch deutlich. Da noch 13 Stämme Pyocyaneus-Bazillen daraufhin aus verschiedenem Krankenmaterial gezüchtet worden waren, wurden sie in den Seris, welche die obigen 18 Typen darstellten, agglutinatorisch untersucht. Kulturell wurden die Eigenschaften dieser Stämme wie die anderen oben beobachtet. Dabei ergab sich, daß ein Stamm, 57, welcher nur in den a-Gruppe-Seren bis zum Titer und in den anderen Seris nicht reagierte, als zu der a-Gruppe gehörig; die 2 Stämme 48, 51, welche in 2 Seren der b-Gruppe bis zum Titer und

in den c-Gruppe-Seren ziemlich stark agglutinierten, als zu der b-Gruppe gehörig; noch 6 andere Stämme, 49, 50, 58, 52, 55, 56, welche in 2 Seren der c-Gruppe sehr stark, bis zum Titer, ferner in 1 Serum der b-Gruppe sehr stark, aber in ihren anderen Seren viel schwächer als der Titer beeinflußt wurden, als zu der c-Gruppe gehörig erkannt wurden. Die übrigen 4 Stämme (45, 47, 53, 54) wurden in allen 18 Seren gar nicht beeinflußt. Deshalb wurden Kaninchen mit diesen 4 Stämmen ebenso immunisiert, wie mit den anderen 38 Stämmen. Diese Sera agglutinierten homologe Stämme so stark, daß der Titer bei 2 Stämmen von 1:10000 und bei den 2 übrigen von 1:2000 bis 1:5000 stark auftrat. In diesen Seris wurden diese 4 Stämme, welche in allen anderen 18 Seren gar nicht beeinflußt wurden, kreuzweise agglutiniert. Es ergab sich dabei, daß kein Stamm darin vorhanden war, welcher in den heterologen Seris bis zum Titer reagierte, so daß die 4 Stämme je einen neuen Typus darstellten. Nach diesen Ergebnissen kann man wohl annehmen, daß die 13 Stämme, welche nachträglich agglutinatorisch untersucht wurden, außer den 3 alten Gruppen, a, b, c, noch 4 neue Gruppen, s, t, u, v enthalten. Infolgedessen konnten wir hier im ganzen 50 Stämme in 22 agglutinatorische Gruppen einteilen (Tab. II). Nach diesen Ergebnissen läßt sich wohl vorstellen, daß bei

Tabelle II.

Name der Bakterien	Name der Immunsera			
	45	47	53	54
45	5000	200	100—	100—
47	100—	20 000	100—	100—
53	100—	100—	20 000	100—
54	100—	100—	100—	2000

Pyocyaneus-Bazillen ebensoviele agglutinatorische Typen nachweisbar sind, wie bei der Proteus-Bazillengruppe.

In den nächsten Untersuchungen wurden die Beziehungen der agglutinatorischen Einteilung bezüglich der morphologischen und kulturellen Eigenschaften beobachtet. Zuerst wurde das morphologische Verhalten der agglutinatorischen Einteilung gegenüber beobachtet. Dabei ist hervorzuheben, daß die Mikroben, welche eine einzige polare Geißel enthalten, 17 Gruppen, nämlich a, b, c, d, g, j, k, l, n, o, p, q, r, s, t, u, v, darstellten. Die 5 übrigen Gruppen zeigten am Pol entweder 2 oder 3 oder 4—5 Geißeln. Dabei wurde beobachtet, daß Bakterienstämme aus ein und derselben agglutinatorischen Gruppe gleich geformte Geißeln zeigten. Aber man kann diese Annahme nicht unbedingt aufrecht erhalten, weil ein Stamm der c-Gruppe ausnahmsweise am Pol 3 Geißeln zeigte (Tab. III). Dann wurden die Beziehungen des Gelatineverflüssigungsvermögens zu der agglutinatorischen Einteilung beobachtet. Die 50 Stämme wurden durch das Verflüssigungsvermögen der Gelatine ungefähr in 3 Teile geteilt, von denen der eine, ,der I., Gelatine stark; der andere, II., sie schwach und der letzte, III., sie nicht verflüssigen kann. Der 1. Teil, I., enthielt im ganzen 19, der 2., II., 18, und der 3., III., 13 Stämme. Die Stämme der I. Gelatineeinteilung bestehen aus 11 agglutinatorischen Gruppen (a, b, c, e, f, j, k, l, n, t, u); die Stämme der II. Gelatineeinteilung aus 4 (a, b, c, h) und die Stämme der III. Gelatineeinteilung aus 11 agglutinatorischen Gruppen (d, e, g, i, m, o, p, q, r, s, v) (Tab. III). Nach dem Peptoni-

Tabelle III.

Agglutinatorische Einteilung			Biologische Einteilung												
Typen	Stammzahl	Stammname	Gelatine			Milch			Farbstoff				Alle biologischen Eigenschaften		Begeißelung
			I	II	III	I	II	III	I	II	III	IV	Typische	Atypische	
a	7	1, 3, 6, 9, 16, 26, 57,	3	4	—	6	1	—	2	4	1	—	7	—	—
b	9	8, 12, 22, 24, 29, 40, 44, 48, 51	2	7	—	6	3	—	3	5	1	—	9	—	—
c	10	14, 25, 27, 39, 49, 50, 58, 52, 55, 56	4	6	—	8	1	1	3	6	1	—	9	1	— ═
d	2	2, 5	—	—	2	—	—	2	—	—	—	2	—	2	—
e	3	28, 31, 35	2	—	1	2	—	1	—	3	—	—	2	1	≡ ≡
f	1	15	1	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—	1	≡ ≡
g	1	17	—	—	1	—	—	1	—	—	—	1	—	1	—
h	1	18	—	1	—	1	—	—	—	1	—	—	1	—	≡ ≡
i	2	20, 21	—	—	2	—	—	2	—	2	—	—	—	2	≡ ≡
j	1	23	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	1	—	—
k	1	30	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	1	—	—
l	2	32, 34	2	—	—	1	1	—	—	—	—	2	—	2	—
m	1	33	—	—	1	—	—	1	—	1	—	—	—	1	═
n	1	36	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	1	—	—
o	1	37	—	—	1	—	—	1	—	—	—	1	—	1	—
p	1	42	—	—	1	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—
q	1	43	—	—	1	—	—	1	—	1	—	—	—	1	— ═
r	1	38	—	—	1	—	—	1	—	—	—	1	—	1	—
s	1	45	—	—	1	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—
t	1	47	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	1	—	—
u	1	53	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	1	—	—
v	1	54	—	—	1	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—

sierungsvermögen der Milch wurden sie auch in 3 Teile geteilt. Der eine Teil, I., stellt diejenigen Stämme dar, welche Milch stark peptonisieren; der andere Teil, II., diejenigen, welche Milch schwach peptonisieren, und der 3. Teil, III., diejenigen Stämme, welche Milch nicht peptonisieren können. Teil I enthält 31 Stämme, Teil II 6 Stämme und Teil III 14 Stämme. Die Stämme aus Teil I wurden in 12 agglutinatorische Gruppen, nämlich a, b, c, e, f, h, j, k, l, n, t, u; die Stämme aus Teil II in 4 agglutinatorische Gruppen, nämlich a, b, c, l und die Stämme aus Teil III in 12 agglutinatorische Gruppen, nämlich c, d, e, g, i, m, o, p, q, r, s, v, eingeteilt (Tab. III). Was die Farbstoffbildung anbelangt, so war das Verhalten gleich. Die Stämme wurden in 4 Teile geteilt. Teil I enthielt solche Stämme, welche den Nährboden stark grün verfärben; Teil II diejenigen Stämme, welche ihn deutlich grünlichgelblich verfärben; Teil III diejenigen, welche ihn mehr gelblich verfärben und Teil IV solche Stämme, welche keinen Farbstoff zu bilden vermögen. Teil I enthält 8 Stämme, Teil II 31, Teil III 3 und Teil IV 8 Stämme. Die Stämme aus Teil I wurden in 3 agglutinatorische Gruppen (a, b, c), die Stämme aus Teil II in 16 agglutinatorische Gruppen (a, b, c, e, h, i, j, k, m, n, p, q, s, t, u, v); die Stämme aus Teil III in 3 agglutinatorische Gruppen (a, b, c) und die Stämme aus Teil IV in 6 agglutinatorische Gruppen (d, f, g, l, o, r) eingeteilt (Tab. III). Diejenigen Stämme, welche, in mehr oder weniger Gelatine verflüssigen, ebenfalls in Milch peptonisiert werden und dazu noch Farb-

stoffbildung zeigen, wurden als typische, und diejenigen Stämme, welche 1 oder 2 oder 3 dieser Eigenschaften eingebüßt hatten, als atypische betrachtet. Der typische Teil enthält 32 Stämme, der atypische 18. Die typischen Stämme wurden in 10 agglutinatorische Gruppen: a, b, c, e, h, j, k, n, t, u und die atypischen Stämmen in 14 agglutinatorische Gruppen: c, d, e, f, g, i, l, m, o, p, q, r, s, v, geteilt (Tab. III). Wenn als agglutinatorisch einheitlich betrachtete Stämme auf obige 3 kulturelle Eigenschaften hin betrachtet wurden, so war das Resultat folgendes: Die Stämme aus derselben agglutinatorischen Gruppe zeigten ebenfalls nicht immer dieselben kulturellen Eigenschaften, wie man bei den Stämmen aus der a-, b-, e- und l-Gruppe ersehen kann (Tab. III). Aehnliches konnten schon Jacobsthal, Trommsdorff und Klienberger bei diesen Bakterien nachweisen. Bei den Proteus-Bazillen wurde von mir ausdrücklich betont, daß die agglutinatorische Einteilung sich nicht immer mit der kulturellen deckt. Doch möchte ich hier darauf aufmerksam machen, daß bei vielen Stämmen diese beiden Eigenschaften ziemlich übereinstimmend, nur bei wenigen Stämmen nicht übereinstimmend zum Vorschein kommen. Wenn z. B. hier Teil I u. II bei Gelatine und Milch als gleiche Eigenschaft zeigend betrachtet werden, weil beide Teile, wenn auch mit graduellen Unterschieden, doch Gelatine und Milch peptonisieren; wenn gleichfalls bei der Farbstoffbildung Teil I, II und III als die gleichen Eigenschaften zeigend betrachtet werden, weil sie doch Farbstoff bilden können, so kann man daraus schließen, daß alle Stämme aus der a-Gruppe dieselben kulturellen Eigenschaften wie die aus der b-Gruppe zeigen. Die meisten Stämme aus der c-Gruppe zeigten ebenfalls gleiche Eigenschaften. Deshalb

Tabelle IV.

	Biologische Einteilung	Zahl der Stämme	Zahl der agglutinatorischen Typen	Beziehung zwischen der Stammzahl und agglutinatorischen Typen
Wachstum	Typisch	33	11	3,0 : 1
	Atypisch	18	14	1,3 : 1
Gelatine	I, II (+)	37	12	3,1 : 1
	III (–)	13	11	1,2 : 1
Milch	I, II (+)	36	12	3,0 : 1
	III (–)	14	13	1,1 : 1
Farbstoff	I, II, III (+)	42	16	2,6 : 1
	IV (–)	8	6	1,3 : 1

(+) typisch.
(—) atypisch.

müssen solche Stämme, welche agglutinatorisch und kulturell nicht übereinstimmen, als Ausnahme betrachtet werden (Tab. III). Hier möchte ich noch eine andere Beobachtung hinzufügen: Welche unter den 22 agglutinatorischen Gruppen können am häufigsten gefunden werden? Wie aus Tabelle II deutlich zu ersehen ist, wurden die 3 ersten Gruppen, nämlich a, b, c, am häufigsten nachgewiesen. Aber sie scheinen nur bei typischen Stämmen, bei atypischen Stämmen jedoch bloß ausnahms-

weise nachzuweisen zu sein. Ferner kann man aus dieser Tabelle noch eine andere Tabelle ableiten, aus der dann deutlich zu ersehen ist, daß typische Stämme viel weniger agglutinatorische Gruppen als die atypischen enthalten (Tab. IV). Diese Erscheinung dürfte wohl beweisen, daß atypische Stämme immer von typischen variieren. Aus den obigen, ganz eingehenden Ausführungen kann man gut erkennen, wieviele agglutinatorische Unterarten die Pyocyaneus-Bazillen enthalten. Unter diesen Unterarten und Varianten sind solche nachzuweisen, welche sowohl morphologisch als auch kulturell ganz atypisch auftreten, so daß sie nicht als Pyocyaneus-Bazillen betrachtet werden können. Sie können vielmehr entweder als B. fluorescens oder als B. putidum betrachtet werden, weil sie bei einem Fall kein Pyozyanin mehr bilden, im anderen außerdem weder Gelatine noch Milch mehr peptonisieren können. Aber man weiß noch nicht, ob B. fluorescens und putidum bei menschlicher Erkrankung vorkommen, weil man bis jetzt diese 3 Bakterien einzeln als selbständige Arten noch nicht unterscheiden kann. Wenn es auch Trommsdorff gelingen sollte, diese 3 Bakterienarten absorptorisch voneinander zu unterscheiden, so scheint doch dieser Unterschied selbst unter den Pyocyaneus-Unterarten noch nachweisbar zu sein. Sie waren ferner selbst bei Trommsdorff, wie bei Přibram und Puray, agglutinatorisch als nahe verwandt aufgetreten. Eine ähnliche Erscheinung konnte auch Eisenberg beobachten. Dazu sind diese 3 Bakterien nach anderen Autoren, wie Lehmann und Neumann, mikroskopisch und kulturell nicht zu unterscheiden. Wenn auch B. fluorescens und B. putidum bei menschlichen Erkrankungen als nicht nachweisbar angenommen werden, so kommen doch Pyocyaneus-Bazillen auch in der Natur, z. B. im Wasser und Boden, beständig vor, wo Fluorescens- und Putidum-Bazillen konstant leben. Deshalb können Pyocyaneus-Bazillen wahrscheinlich mit ihnen zusammen dort ein saprophytisches Dasein führen. Infolgedessen ist es leicht denkbar, daß diese 2 anderen Bakterienarten, ebenso wie die Pyocyaneus-Bazillen in den Menschenkörper gelangen und sich dort so verändern können, daß sie an den menschlichen Erkrankungen teilnehmen. Zufolge obigen Befunden und Annahmen ist es wohl rationeller und zweckmäßiger, diese 3 Bakterienarten als eine Art zu betrachten, welche in verschiedene Unterarten und Unterunterarten geteilt werden kann, wie es bei den Proteus-Bazillen der Fall ist. Diese Unterarten und Unterunterarten müssen selbstverständlich sowohl morphologisch, kulturell als auch agglutinatorisch festgestellt werden. Dabei muß bemerkt werden, daß diese 3 Eigenschaften nicht immer übereinstimmend erscheinen. In diesem Falle halte ich es für zweckmäßiger, sie einzeln getrennt und je nach Bedarf zu verwenden, wie ich schon bei der agglutinatorischen Einteilung der Proteus-Bazillen bemerkte.

Zusammenfassung.

1) Die Pyocyaneus-Bazillen, welche im menschlichen Körper vorkommen, zeigen verschiedene, voneinander abweichende biologische Eigenschaften, so daß man dabei nicht schwer Stämme nachweisen kann, welche entweder von B. fluorescens oder von B. putidum nicht unterscheidbar sind. Die Pyozyaninbildung gilt nicht mehr als eine konstante Eigenschaft der Pyocyaneus-Bazillen, so daß man sie dadurch

nicht von ihnen verwandten Bakterien differenzieren kann. — 2) Die Pyocyaneus-Bazillen enthalten sehr viele agglutinatorische Typen, ebenso wie die Proteus-Bazillen. 50 Stämme wurden nämlich im ganzen in 22 Typen eingeteilt, welche sich gegenseitig scharf voneinander unterscheiden. — 3) Die agglutinatorische Einteilung stimmte mit der kulturellen nicht immer überein. — 4) Da ferner einerseits von Lehmann und Neumann kulturell, anderseits von Přibram und Puray, Trommsdorff und Eisenberg agglutinatorisch nachgewiesen wurde, daß obige 3 Bakterien gegenseitig sehr nahe verwandt sind, bin ich der Meinung, es sei rationeller und zweckmäßiger, diese 3 Mikroorganismen als eine Art zu betrachten und zu behandeln, ebenso wie die Proteus-Bazillen.

Literatur.

1) Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. S. 739. — 2) Klienberger, Münch. med. Wochenschr. 1907. S. 1330. — 3) Jacobsthal, Ibid. 1912. S. 1247. — 4) Přibram u. Pulay, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 321. — 5) Trommsdorff, Ibid. Bd. 78. 1916. S. 493. — 6) Burckhardt, Ibid. Bd. 79. 1917. S. 321. — 7) Aoki u. Iizuka, Tohoku II. Journ. of exp. Med. Vol. 1. 1920. p. 493.

Vergleichende experimentelle Untersuchungen mit dem Erreger der Rattenbisskrankheit und der Mäusespirille[1].

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes in Berlin-Dahlen.]

Von **Werner Worms.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Eine besonders in Japan verbreitete, aber auch in Indien, Siam, Niederländisch-Indien, Nordamerika, wie auch in Europa, und hier in Frankreich, England, Spanien, Italien, Türkei, Holland, Rußland, Schweiz, Österreich, und auch in Deutschland gelegentlich vorkommende Erkrankung stellt die durch den Biß von Ratten übertragene Rattenbißkrankheit dar. Dieselbe beginnt nach einer Inkubation von durchschnittlich 10—27 Tagen plötzlich mit Schüttelfrost, hohem Fieber, entzündlicher, bis zur Nekrose führender Reaktion der zumeist schon verheilt gewesenen Bißstelle, und Schwellung der benachbarten Drüsen. Das Fieber zeigt einen unregelmäßig rekurrierenden Typus, hält mehrere Wochen, in schweren Fällen auch Monate an, in dessen Verlauf ein bei einem späteren Fieberabfall wieder verschwindendes universelles, papulo-erythematöses Exanthem auftritt. In dem wechselnden Verlauf der Krankheit — in Japan bis 10 Proz. Mortalität — kommt es gewöhnlich auch zu Allgemeinsymptomen leichterer oder schwererer Art, wie starkem Krank-

1) Vortrag, gehalten in der Berliner Gesellschaft für Mikrobiologie, 18. Mai 1925.

heitsgefühl, Kopf- und Gliederschmerzen, Schwindel, — nervösen wie auch Magen-Darmstörungen. Ist also die Rattenbißkrankheit als geschlossenes klinisches Krankheitsbild seit langem bekannt, so herrschte aber über das durch den Biß der Ratte übertragene Virus keine einheitliche Meinung, indem zahlreiche Autoren verschiedenartige Erreger beschrieben. Erst Futaki und Mitarbeitern gelang es im Jahre 1915, einen jetzt allgemein anerkannten Mikroorganismus aufzufinden, den sie als Spirochäte auffaßten und als Spirochaeta morsus muris bezeichneten. Sie beschrieben von diesem Erreger zwei Formen, einen kurzen Typus, der im Blute des infizierten Patienten vorherrschte, und eine längere Spirochäte, die mehr in den Geweben und in den Lymphdrüsen nachzuweisen wäre. Während die langen Formen beim Menschen und Tier nur ganz vereinzelt gesehen wurden (Kaneko u. Okuda, Kitakawa), sind in der Folge hauptsächlich nur die kurzen Formen (Futakis bestätigt worden, und auch bei den hier vorzutragenden tierexperimentellen Untersuchungen handelt es sich stets nur um die bei den Versuchstieren allein beobachteten kurzen Formen. 1920 machte nun M. Zuelzer anläßlich ihrer Untersuchungen über die Mäusespirillen auf die auffallende Aehnlichkeit dieser kurzen Formen mit den im Blute unserer weißen und grauen Mäuse vegetierenden Spirillen aufmerksam und betonte, daß danach der Erreger der Rattenbißkrankheit mit diesen identisch sein könnte. Ganz besonders wies M. Zuelzer damals noch darauf hin, daß, wenn die „Spirochaeta" morsus muris sich hinsichtlich ihrer Ausrüstung mit Geißeln und der Art der Teilung mit der Spirochaeta muris gleich verhalten sollte, „auch der Spirochaeta morsus muris ein Platz außerhalb der Gattung Spirochaeta angewiesen werden" müsse, da es sich dann bei diesem Erreger wie bei der Mäusespirochäte nicht um eine Spirochäte, sondern um echte Bakterien, und zwar Spirillen, handeln würde.

Auf Veranlassung von Frl. Zuelzer habe ich nun systematische experimentelle Prüfungen der Beziehungen der Rattenbißspirochäten zu den Mäusespirillen als Rockefeller-Scholar in der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes aufgenommen, nachdem durch die Freundlichkeit des Herrn Prof. Oba (Nagoya, Japan) das Reichsgesundheitsamt in den Besitz von in Japan mit Rattenbißvirus geimpften Ratten gelangt war, die Frl. Zuelzer sich zu diesem Zwecke erbeten hatte, und Herr Dr. Röhl in Elberfeld uns in liebenswürdiger Weise einen schon im Jahre 1911 im Blute hiesiger weißer Mäuse von Wasielewski aufgefundenen und seitdem in Mäusepassagen weitergeführten Mäusespirillenstamm zur Verfügung gestellt hatte, der der Kürze wegen hier als „Elberfeld-Stamm" bezeichnet werden soll.

Die morphologischen Untersuchungen

ergaben nun eine vollkommene Uebereinstimmung der Rattenbißspirillen mit dem Elberfeld-Stamm. Wie dieser, zeigen die im Blut und Peritonealexsudat der aus Japan gesandten Ratten auffindbaren Mikroorganismen durchschnittlich 4—6 meist regelmäßige Windungen, ihre Länge beträgt ohne Geißel 4—6 μ, sie sind nicht flexibel und an beiden Enden mit einem bei der Zettnowschen Geißelfärbung allerdings häufig verklebten, aus feinsten Geißeln zusammengesetzten Geißelbüschel versehen (Fig. 1). Die Länge der Geißeln entspricht durchschnittlich derjenigen von ein bis drei Windungen, sie zeigen bei

Dunkelfeldbeobachtung deutliche Eigenbewegung, im Gegensatz zu dem auch bei schnellstem, meist stoßartigem Fortbewegen stets starr bleibendem Körper. Die Geißeln sind nun nicht nur an den Enden des Körpers, sondern häufig auch um die Mitte desselben angelegt, Bilder, die entsprechend den Befunden M. Zuelzers bei den Mäusespirillen als beginnende Querteilungsvorgänge anzusprechen sind. Die Länge der in Querteilung befindlichen Spirillen kann sehr wechseln; es wurden Geißeln um die Mitte von erst 2—3 Windungen zeigenden Exemplaren angelegt beobachtet, und so ist es verständlich, daß gar nicht selten Spirillen von nur einer Windungslänge mit an den Enden befindlichen Geißeln gefunden wurden (Fig. 2). Diese Befunde bilden eine Bestätigung der von Zuelzer ausgesprochenen Vermutung, daß die Gestalt der kurzen Varietät der „Spirochaeta“ morsus muris derjenigen der „Spirochaeta“ muris völlig gleiche, und daß damit dieser Erreger der Rattenbißkrankheit nicht zu den Spirochäten, sondern zu den Spirillen zu rechnen wäre. Von japanischen Autoren hat bisher nur Adachi (1921) die Spirillennatur der Spirochaeta morsus muris anerkannt; er erhielt die besten Geißelbilder mit alkalisierter Akashi-Lösung, einer modifizierten Giemsa-Methode—, wenn auch schon Futaki und Mitarbeiter (1917) von dieser „Spirochäte“ schreiben: „The movements of our spirochetes are very rapid, resembling those of a vibrio, and distinguish them from all other kinds of spirochetes.“



Fig. 1. Rattenbißspirille mit verklebten Seitenbüscheln an beiden Enden. (Vergrößerung 1800fach.)

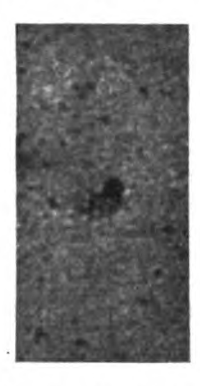


Fig 2. Rattenbißspirille mit einer Windung und zwei Geißeln. (Vergrößerung 1800-fach.)

Von den übrigen Autoren, die sich mit der „Spirochaeta“ morsus muris beschäftigt haben, kommt nur noch allein Robertson zu dem Schluß, daß es sich sowohl bei den von den japanischen Forschern beschriebenen Exemplaren wie auch bei dem von ihm aus Patientenblut gewonnenen Rattenbißstamm nur um echte Spirillen handeln könne. Hierbei seien noch Beobachtungen desselben Autors erwähnt, die für die Auffassung der langen Formen des Rattenbißvirus wesentlich erscheinen können. Robertson beobachtete an verschiedenen Tagen ein einheitliches Vorherrschen zuweilen kürzerer, zuweilen auch längerer Formen bei ein und demselben Tier, so daß hinsichtlich der Körpergröße — ohne Geißeln gemessen — Unterschiede zwischen 9—10 μ und 1,5 zu verzeichnen waren. Es wäre dies ein Befund, der die auf Grund histologischer Untersuchungen gewonnene Auffassung von Kaneko und Okuda bestätigen könnte, daß „these two forms of spirochete belong to the same species, as one type grades into the other morphologically speaking“.

Bei den nun zu besprechenden

Tierversuchen

war hinsichtlich der Verwendung von

Ratten und Mäusen

genau durch wiederholte Untersuchungen der Nachweis zu führen, daß diese Tiere nicht schon vor ihrer Verwendung spontanerweise Spirillen enthielten. Diese Untersuchung mußte ausgeführt werden, da gemäß den Veröffentlichungen der letzten Jahre ein Befallensein der wilden freilebenden Ratten in fast 25 Proz. von Ishiwara und Mitarbeitern, bis zu 14 Proz. (nach Matsuzaki und Mitarbeitern) in Japan, bei N. bengalensis von Permanand in Bombay in 11 Proz. festgestellt wurde, und auch schon früher eine große Anzahl Autoren (Carter, Wenyon, Breinl u. Klinghorn, Mac Neal, Lingard [Mus giganteus], Borrel, Deetgen usw.) das spontane Vorkommen von Spirochäten, die nach der Beschreibung durchaus mit der Rattenbißspirille identisch gewesen sein können, bei Ratten und Mäusen, zum Teil auch in unseren Breiten, beobachtet hatten. Bei meinen Versuchstieren konnte hinsichtlich der Ratten ein spontanes Vorkommen von Spirillen nicht festgestellt werden, wohl aber bei den weißen Mäusen, und zwar hier in etwa 1 Proz. Von den aus Japan bezogenen Ausgangsratten wurden nun die Rattenbißspirillen durch peritoneale Verimpfung infektiösen Rattenblutes in Rattenpassagen weitergeführt. Die Spirillen sind nach Ablauf von durchschnittlich 10 Tagen im Blut und Peritonealexsudat im Dunkelfeld nachweisbar und am reichlichsten in der dritten Woche nach der Impfung zu finden. Späterhin werden sie allmählich spärlicher, sind zeitweise bei Dunkelfeldbeobachtung nicht nachweisbar, doch stets durch Blutverimpfung auf gesunde Ratten oder Mäuse. Aeußere Krankheitszeichen, wie Haarausfall, Abmagerung, verminderte Freßlust, oder auch nur irgendeine nennenswerte Verkürzung der Lebensdauer war bei den infizierten Ratten nicht zu beobachten. Da die Krankheit, wie es ja der Name sagt, durch den Biß infizierter Ratten auf Menschen übertragen wird, wurde die Untersuchung der Maulhöhlen sowohl bei ungeimpften wie geimpften Ratten vorgenommen. In keinem Falle waren gleich den Befunden Futakis und seiner Mitarbeiter Spirillen nachweisbar. Hinsichtlich der Uebertragung der Spirillen von einer Mutterratte auf die Jungen konnte übrigens in einem Falle festgestellt werden, daß eine solche bei 10 Jungen einer trächtigen infizierten Mutterratte nicht zustande gekommen war.

Zum Vergleich wurden nun auch die Mäusespirillen des Elberfeld-Stammes in entsprechender Weise auf ausgewachsene Ratten verimpft: es zeigte sich hier in allen Beziehungen völlige Uebereinstimmung mit dem Verhalten der mit Rattenbißspirillen geimpften Ratten, im Gegensatz zu den Befunden von Wenyon, der die von ihm im Mäuseblut aufgefundenen Spirochäten nur auf junge, nicht aber auf ausgewachsene Ratten übertragen konnte, und auch im Gegensatz zu Kasai, der zum Unterschied von der Rattenbißspirochäte und der im Blute der Hausmaus vegetierenden Spirochäte die bei der weißen Maus vorkommende Spirochäte nur auf junge Ratten erfolgreich verimpfen konnte, und nur dann auf ausgewachsene Ratten, wenn diesen zuvor die Milz exstirpiert worden war.

Bei den Mäusen erstreckten sich die Untersuchungen sowohl mit dem Rattenbiß- wie mit dem Elberfeld-Stamm auf ein Material von etwa je 150 Tieren. Die Verimpfung der Spirillen wurde stets mit gut infiziertem Blut, zuweilen auch mit Peritonealexsudat, intraperitoneal ausgeführt. Die ersten Spirillen sind bei beiden Stämmen in gleicher Weise durchschnittlich am 8. Tage im Blute zu finden. Der Nachweis gelingt vereinzelt schon am 5. Tage, kann aber auch bis zum 14. Tage nach der Verimpfung verzögert sein.

Die Zahl der im Blute zu beobachtenden Spirillen ist außerordentlich wechselnd. Wie bei den Ratten ist meistens der Gehalt des Blutes an Spirillen in der 3. Woche nach der Infektion am reichlichsten und regelmäßigsten, doch ist bei weiterer Beobachtung das Mäuseblut viel besser infiziert als das der Ratten. Die einmal infizierten Mäuse erweisen sich während der ganzen Dauer ihres Lebens, das bei beiden Stämmen durch die Infektion nicht abgekürzt wird, als infiziert, so daß noch mehrere Monate nach der Impfung die Spirillose durch peritoneale Inokulation des Blutes alter Mäuse, wenn es auch im Dunkelfeld keine Spirillen erkennen läßt, auf gesunde Mäuse übertragen werden kann. Wie bei den Ratten, waren in den Maulhöhlen geimpfter und ungeimpfter Mäuse Spirillen in keinem Falle nachweisbar. Bei diesen Maulhöhlenuntersuchungen mußte peinlich darauf geachtet werden, keine Schleimhautverletzungen zu setzen, da ja die geringste Blutbeimengung ein positives Resultat hätte vortäuschen können. Vielleicht sind es aber gerade diese Schleimhautverletzungen, die gelegentlich des Bisses der beißenden Ratte oder Maus zu Blutungen in die Maulhöhle und damit zu Spirillenbeimengungen in den Speichel und in die Bißwunde hinein führen können, wenn nicht eine etwa nur zeitweise Ausscheidung in den Speichel angenommen werden soll, worauf vielleicht der Befund von Rattenbißspirillen in den Ausführungsgängen und Tubuli der Speicheldrüsen infizierter Ratten seitens japanischer Autoren hinweisen könnte. Versuche, die Uebertragung der Infektion von Maus zu Maus durch Bisse der infizierten Maus auf die gesunde vorzunehmen, mißlangen bei beiden Stämmen, obgleich nur Mäuse, deren Blut reichlich infiziert war, dazu verwendet wurden.

Hinsichtlich des Harnes konnte ich die gelegentlichen Spirillenbefunde japanischer Autoren (Tsuneoka, Kusama, Kobayashi, Kasai) weder im Dunkelfeld noch tierexperimentell bestätigen.

Mehrfach war bei den Untersuchungen bei beiden Stämmen Gelegenheit festzustellen, daß kranke Mäuse die Infektion auf die Jungen nicht übertragen, und daß bei diesen Jungen eine ererbte Immunität weder gegen den einen noch gegen den anderen Stamm besteht.

Irgendwelche äußeren Krankheitszeichen konnten bei den Mäusen nicht nachgewiesen werden, dagegen zeigte die Infektion der

Meerschweinchen

eine Reihe deutlicher Symptome. Das Bild der durch Verimpfung der Rattenbißspirillen auf das Meerschweinchen erzielten Infektion ist durch die Arbeiten japanischer, englischer und indischer Autoren (Ogata, Lingard [?], Futaki u. Mitarbeiter, Kaneko u. Okuda, Ishiwara, Ohtawara u. Tamura, Yamada, Kitakawa, Kusama u. Mitarbeiter, Parmanand, Robertson) so festgelegt, daß das Meerschweinchen ganz besonders zur vergleichenden Pathogenitäts-

prüfung, auch des Elberfelder Mäusespirillenstammes, geeignet erschien. Derartig vergleichende Untersuchungen mit je einem vom Menschen, von einer wilden Ratte und von einer Feldmaus gewonnenen Spirillenstamm sind auch schon von Kusama, Kobayashi und Kasai ausgeführt worden, wobei sich zeigte, daß alle drei Stämme bei den Meerschweinchen Alopecie und Gewichtsverlust herbeizuführen vermochten, Fieber aber regelmäßig nur die ersten beiden Stämme, da die mit Feldmausvirus geimpften Tiere Temperaturerhöhungen nur in seltenen Fällen zeigten. Bei Verwendung des dem Reichs-Ges.-Amt überlassenen Rattenbiß- und Mäusespirillenstammes traten nun ebenfalls im großen ganzen die gleichen Krankheitsbilder bei den infizierten Meerschweinchen auf. Nach einer Inkubationszeit von durchschnittlich 14—18 Tagen konnten die Organismen nach intraperitonealer Verimpfung von „Elberfeld"- wie Rattenbißspirillen-haltigen Mäuse-, Ratten- oder später auch Meerschweinchenblutaufschwemmungen im peripheren Blut nachgewiesen werden. Sowohl in den ersten Tagen wie auch später während der ganzen Krankheitsdauer waren die Spirillen im Blut und Peritonealexsudat verhältnismäßig spärlich nachzuweisen, und zwar viel seltener und unbeständiger als bei den Ratten, doch war auch hier wie bei der Maus und Ratte in den späteren Stadien der Infektion ein in unregelmäßigen Perioden erfolgendes, schubmäßiges Auftreten unverkennbar. Dabei waren aber gewisse Unterschiede hinsichtlich des Spirillengehaltes des Blutes zwischen den beiden Stämmen unverkennbar, da die Rattenbißspirillen im Blute der Meerschweinchen reichlicher auftraten als das Elberfeld-Virus, was ganz besonders bei den Rattenbiß-Meerschweinchen kurz vor ihrem durch die Infektion bedingten Tode deutlich wurde. Das Blut der einmal infizierten Elberfeld-Meerschweinchen scheint — gemäß dem Ausfall der Dunkelfeld-Untersuchungen wie auch nach dem Ergebnis der Uebertragungsversuche des Blutes auf Meerschweinchen und Mäuse — nicht in allen Fällen die Spirillen während der ganzen Lebensdauer der Tiere, d. h. auch noch nach Abklingen der klinischen Erscheinungen zu enthalten, bei den Rattenbiß-Meerschweinchen waren derartige Untersuchungen durch den vor Verschwinden der Krankheitszeichen einsetzenden Tod unmöglich.

Außer der erwähnten Inokulationsart der Meerschweinchen gelang bei diesen Tieren die Infektion durch den Biß kranker Mäuse, und zwar, was besonders hervorgehoben zu werden verdient, nicht nur beim Rattenbiß-, sondern auch beim Elberfeld-Spirillenstamm. Dagegen gelang bei beiden Stämmen nicht die Infektion gesunder Mäuse oder Meerschweinchen durch den Biß infizierter Meerschweinchen. Die Bißverletzung wurde in allen Versuchen dadurch herbeizuführen gesucht, daß Extremitäten des Tieres, das die Bißwunde zu empfangen hatte, in die Maulhöhle des Tieres, das den Biß ausführen sollte, gehalten wurde, wobei acht zu geben war, daß speziell Zehen und Krallen nicht die Maulhöhle verletzten. Bei den durch den Biß kranker Mäuse infizierten Meerschweinchen heilten die Bißstellen reaktionslos ab und zeigten nichts von Anschwellung oder später auftretender Zyanose, wie es von Ishiwara, Ohtawara und Tamura an den von rattenbißkranken Ratten gebissenen Extremitäten der Meerschweinchen beobachtet wurde.

Bei der Beschreibung der klinischen Krankheitszeichen dieser Spirillosen der Meerschweinchen ist das von Ishiwara und Mitarbeitern, von Yamada, Kusama, Kobayashi u. Kasai, **Parmanand**

und Robertson angegebene Fieber der mit Rattenbißvirus infizierten Meerschweinchen nicht nur bei unserem Rattenbißspirillenstamm zu bestätigen, sondern auch die mit dem Elberfelder Mäusespirillenstamm geimpften Meerschweinchen zeigten im großen ganzen die gleichen Temperaturverhältnisse (Fig. 3 und 4). Bei beiden Stämmen zeigt sich

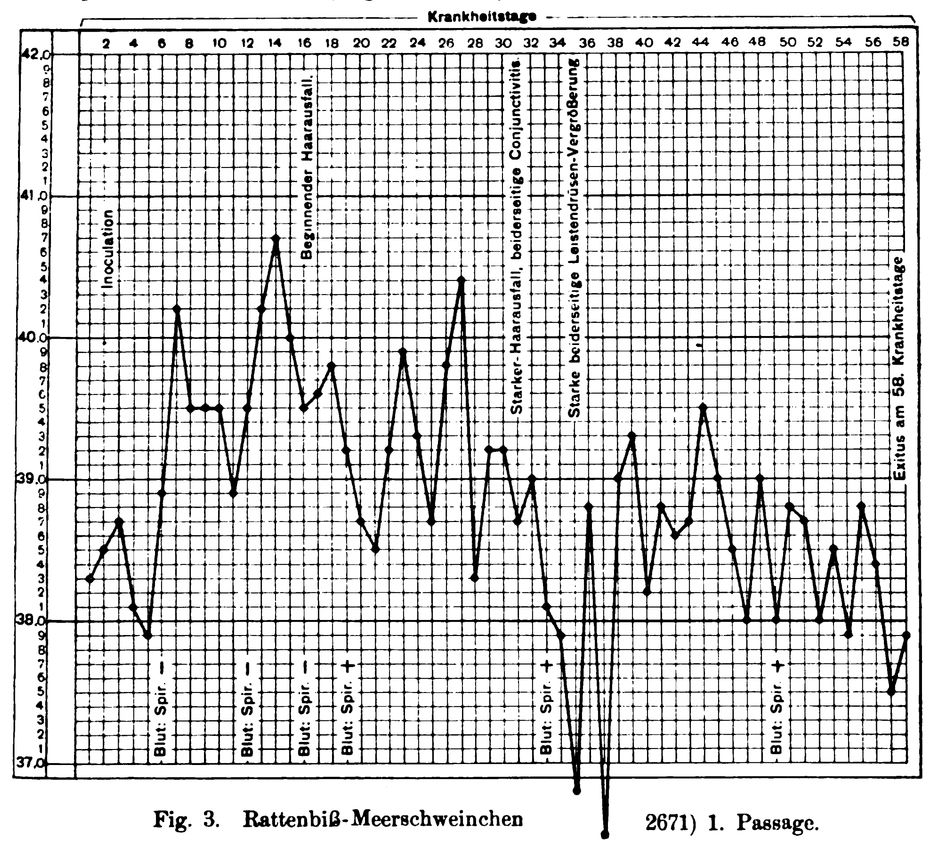


Fig. 3. Rattenbiß-Meerschweinchen 2671) 1. Passage.

allmähliche Temperaturerhöhung auf über 40°, und zwar derart, daß bei den Rattenbiß-Meerschweinchen diese Steigerung schon nach durchschnittlich 9, bei den Elberfeld-Tieren erst nach 20 Tagen erreicht ist. Diese Steigerungen wiederholen sich öfter mit unregelmäßigen Intervallen geringer Temperaturerhöhungen; gegen Ende der Krankheit fällt das Fieber allmählich ab. Eine Beziehung zwischen Spirillenbefund im Blut und Temperaturhöhe scheint nicht zu bestehen, denn derselbe war sowohl bei hohen wie bei niederen Fieberwerten bei beiden Stämmen das eine Mal positiv, das andere Mal negativ. In allen Fällen aber trat die Temperaturerhöhung eher auf, als mittels Dunkelfeldbeobachtung Spirillen im Blut zu sehen möglich war. Denn es war bei sämtlichen Versuchstieren das Fieber sogar das erste aller sonstigen Krankheitszeichen, von denen besonders noch der Haarausfall genannt werden muß.

Dieses Symptom wurde bei Rattenbiß-infizierten Meerschweinchen schon von Futaki und Mitarbeitern beschrieben. In dem Referat der in japanischen Zeitschriften erschienenen Arbeiten Futakis wird im Tropical Diseases Bulletin berichtet, daß Augenlid, Nase und Ober-

lippe früh befallen werden, ohne Unterschied, wie die Infektion herbeigeführt wurde; die Erreger verbreiteten sich durch das Corium, bis die ganze Haut ergriffen wäre und die Haare ausgefallen seien. Auch Kusama, Kobayashi und Kasai berichten, daß einerlei, ob Rattenbiß-

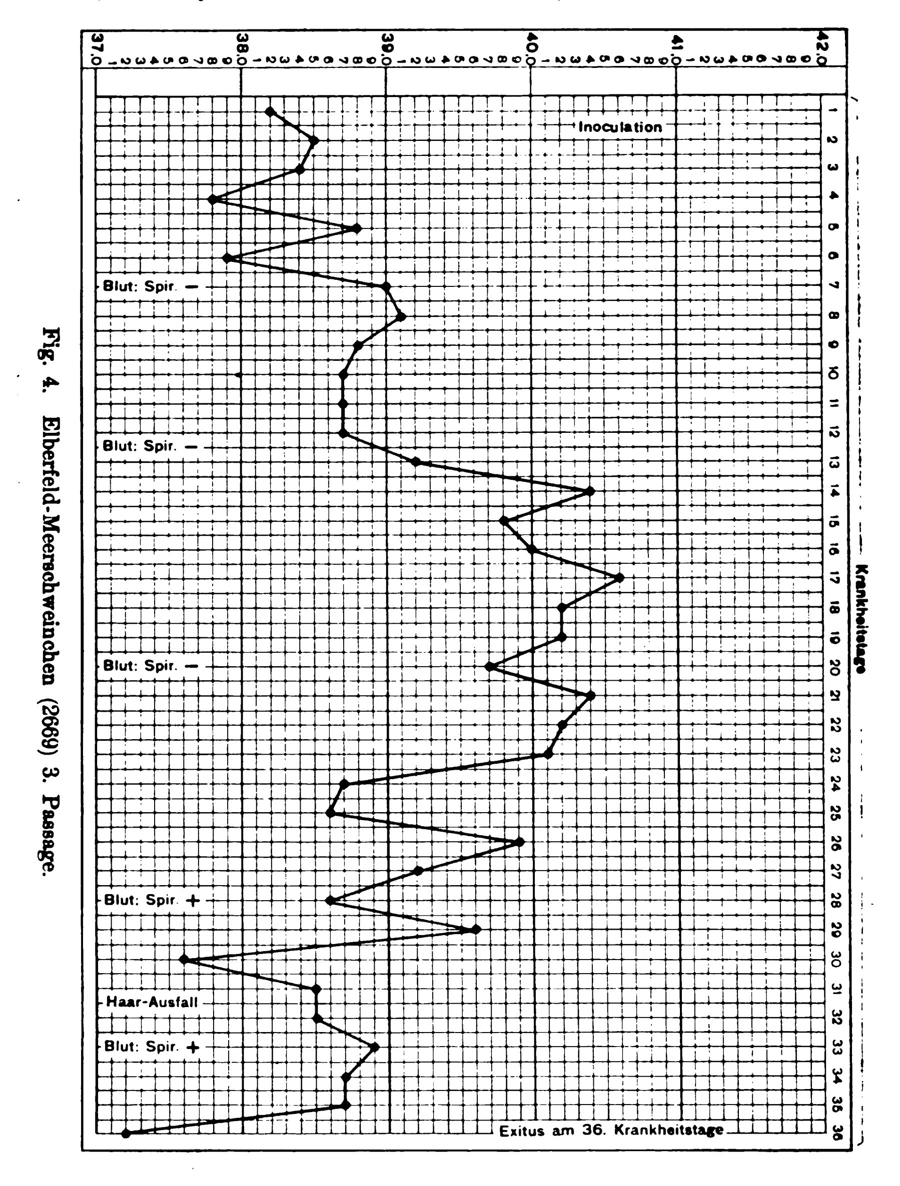


Fig. 4. Elberfeld-Meerschweinchen (2669) 3. Passage.

virus vom Menschen, von Ratte oder Feldmaus verwandt würde, beim Meerschweinchen die Alopecie zuerst im Gesicht beginne und sich dann über den ganzen Körper ausbreite. Letzthin hob auch Robertson die durch die Infektion hervorgerufene schlechte Beschaffenheit des Haarkleides bei seinen mit dem englischen Rattenbißspirillenstamm ge-

impften Meerschweinchen hervor. Bei meinen Versuchen trat nun bei beiden Stämmen der Haarausfall in der gleichen Weise auf; er begann ganz allmählich in der 3. Krankheitswoche auf dem Nasenrücken und den Lidrändern beider Augen, wurde jedoch immer stärker und war bei den an der Infektion zugrunde gehenden Tieren bis zum Tode vorhanden. Bei den Tieren aber, die die Krankheit überstanden, d. h. bei den Elberfeld-Meerschweinchen, wuchsen die Haare allmählich wieder nach. Der Haarausfall trat besonders deutlich auf, wenn junge Meerschweinchen, etwa im Gewicht von 150—200 g, zu den Versuchen benutzt wurden, bei den letzten Passagen schien jedoch auch an jungen Tieren die Elberfeld- wie die Rattenbißspirillose der Meerschweinchen ohne Haarausfall zu verlaufen. Die auffällige Lokalisation des Haarausfalles an Lidern und Nasenrücken könnte vielleicht mit der bei beiden Stämmen nach meinen Beobachtungen etwa in einem Drittel der Fälle auftretenden Conjunctivitis in Zusammenhang gebracht werden — nur einmal ergab die Dunkelfelduntersuchung des Konjunktivalsekretes einen positiven Befund —; es haben aber Kusama und Mitarbeiter im subkutanen resp. submukösen Bindegewebe und Muskulatur der Augenlider und Nase des Meerschweinchens die Erreger nachweisen können, wodurch vielleicht der Haarausfall an diesen Körperstellen erklärt sein könnte. Mir selbst ist — allerdings nur bei Dunkelfelduntersuchung — der Spirillennachweis in den auf den haarentblößten Partien auftretenden mikropapulösen Gebilden niemals gelungen. Allgemeiner Haarausfall konnte nur bei zwei an Rattenbißspirillose verendenden, stark kachektisch gewordenen Tieren beobachtet werden. Von übrigen Symptomen seien noch kurz die Lymphdrüsenschwellungen, speziell die der Leistendrüsen, sowie zuweilen ein starker Gewichtsverlust, besonders bei den an der Rattenbißspirillose verendenden Tieren, erwähnt. Hinsichtlich des Ausganges der Krankheit zeigten sich bei beiden Stämmen erhebliche Unterschiede, da nach einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von $9^1/_2$ Wochen sämtliche Rattenbiß-Meerschweinchen der Infektion erlagen, während die mit dem Elberfeld-Mäusespirillenstamm geimpften Meerschweinchen nach etwa der gleichen Krankheitszeit nur in 30 Proz. durch die Infektion zugrunde gingen, die übrigen 70 Proz. aber am Leben blieben. Diese Unterschiede können aber nicht als Beweis einer Wesensverschiedenheit der beiden Stämme gewertet werden, da selbst auch die verschiedenen Rattenbißstämme nach den Literaturangaben (Ishiwara und Mitarbeiter, Parmanand, Row, Robertson) sich in ihrer Letalität für Meerschweinchen different verhalten. Die Zerlegungsbefunde der verendeten Tiere stimmen im großen ganzen bei beiden Stämmen mit der von Ishiwara, Ohtawara und Tamura gegebenen Beschreibung überein; es fanden sich Kongestion der Leber und Lunge, welch letztere oft hämorrhagisch-pneumonische Herde zeigte, ferner mehr oder weniger starke Schwellung der Nieren, die auf der Schnittfläche geringes Oedem und kleine hämorrhagische Flecken in den Rindenpartien zeigten, Kongestion und deutliche Vergrößerung der Nebennieren, spärliches, leicht hämorrhagisches Exsudat in der Peritonealhöhle, und fast stets eine auffällig pralle Füllung der Gallenblase. Ueber die zurzeit noch im Gang befindlichen histologischen Untersuchungen wird später zu berichten sein.

Infolge der Ausheilung eines großen Teiles der Elberfeld-Meerschweinchen — die Ausheilung wurde festgestellt durch mehrfach ver-

geblich ausgeführte peritoneale Meerschweinchenblutverimpfungen auf gesunde Mäuse und Meerschweinchen — war es möglich, wechselseitige Nachimpfungen vorzunehmen. Diese Versuche führten zu dem interessanten Ergebnis, daß eine Infektion dieser Tiere mit dem Rattenbißstamm zwar möglich war, daß dieselbe aber außerordentlich leicht verlief. Die Tiere zeigten zwar wieder einen geringen Haarausfall, auch ein verspätetes und allerdings nur auf wenige Tage beschränktes Auftreten von Spirillen im Blut, jedoch verlief die Infektion ohne irgendwelche Temperatursteigerungen. Das Ergebnis dieser wechselseitigen Impfungen spricht ebenfalls für außerordentlich nahe Beziehungen auch im biologischen Verhalten der beiden Stämme, indem zwar ein Ueberstehen der Elberfeld-Spirilleninfektion die erfolgreiche Nachimpfung mit Rattenbißvirus nicht völlig ausschließt, gegenüber aber dem sonst tödlichen Verlauf der Rattenbißinfektion den Meerschweinchen einen Schutz ermöglicht.

Kaninchen-Versuche.

Die Erreger der Rattenbißkrankheit sind mit Erfolg schon von Yamada, sowie von Matsumoto, Shin Ichi und Adachi, vielleicht auch schon 1899 von Lingard auf das Kaninchen übertragen worden. Matsumoto und Mitarbeiter haben nun in der Annahme, daß die Rattenbißkrankheit des Menschen hinsichtlich ihres Verlaufes — schankerähnliche Bildungen an der Bißstelle, so daß es in „vereinzelten Fällen fast unmöglich gewesen“ ist, „die Differentialdiagnose gegen Extragenitalschanker zu stellen“, Lymphdrüsenschwellungen, Allgemeinerscheinungen — und ihrer Beeinflußbarkeit durch Salvarsan Verwandtschaft zur Syphilis zeigt, durch perkutane Impfung am Scrotum beim Kaninchen einen ähnlichen Primäraffekt wie bei der experimentellen Kaninchensyphilis erzeugt. Die im Anschluß an diese Mitteilung von mir an 12 Kaninchen ausgeführten perscrotalen Verimpfungen mit Rattenbiß- wie Mäusespirillen-haltigen Mäuseblut-NaCl-Lsg-Aufschwemmungen führten bei beiden Stämmen, im Gegensatz zu Kontrollversuchen mit NaCl-Lsg-Aufschwemmungen von normalem Mäuseblut, zu ähnlichen Erscheinungen. 6—9 Tage nach der Impfung wurde eine zunächst diffus-ödematöse, in ihrer Stärke zunehmende Schwellung des Scrotums mit später palpatorisch gut abgrenzbarem Infiltrat von $^1/_2$—1 cm Dicke sichtbar, desgleichen zur selben Zeit oder 2—3 Tage später eine derbe Schwellung der Leistendrüsen. Nach 10—14 Tagen — von der Impfung an gerechnet — wurde das primäre Infiltrat, das nicht so derb ist wie beim luetischen Primäraffekt, allmählich in ganzer Ausdehnung schwarzbraun und hämorrhagisch und zeigte starke Neigung zu oberflächlicher Nekrose. wobei in diesem Stadium das Oedem in mehr oder weniger hohem Grade verschwand. In 3—4 Wochen post infectionem waren die Erscheinungen abgeklungen, und es blieb nach 8 Wochen kaum noch eine Narbe oder Leistendrüsenschwellung zurück. Die von Takenaka berichtete, in der 4. bis 5. Krankheitswoche auftretende ödematöse Schwellung des Präputiums, wie auch die Atrophie des Hodens, Symptome, von denen das letztere als Resultat der akuten Orchitis entstände, habe ich in keinem Falle beobachten können. Bei keinem der Kaninchen gelang der Spirillennachweis im Reizserum durch Beobachtung im Dunkelfeld, sondern nur durch peritoneale Verimpfung

des Reizserums auf Mäuse. Wie im Schankersekret, so sind auch im Blute des Kaninchens die Spirillen sehr schwer, nur durch peritoneale Verimpfung des Blutes auf die Maus, nachweisbar gewesen. Bei je einem mit Rattenbiß- und mit Mäusevirus perscrotal infizierten und in typischer Weise erkrankten Kaninchen konnte durch täglich während der ersten drei Wochen nach der Inkubation vorgenommene peritoneale Blutverimpfung (aus der Ohrvene entnommen) auf Mäuse nur einmal am 17., und im anderen Falle am 12. Tage Spirillen nachgewiesen werden. Dagegen gelang es, bei einem mit Rattenbißspirillen-haltigem Mäuseblut intravenös gespritzten Kaninchen 8 Tage nach der ersten Injektion im Blute bei der Untersuchung im Dunkelfeld Spirillen zu beobachten. Zum Unterschied von den symptomreichen Bildern der Merschweinchenspirillosen konnten bei keinem der perscrotal infizierten Kaninchen äußere klinische Krankheitszeichen einer Allgemeininfektion, wie etwa Haarausfall, Conjunctivitis, mangelnde Freßlust, Gewichtsabnahme, beobachtet werden. Nachimpfungsversuche bei acht klinisch erscheinungsfreien Tieren 4 bzw. 2 Monate nach der ersten erfolgreichen Skrotalinfektion mit homologem wie heterologem Virus blieben in allen Fällen, im Gegensatz zu den positiven Kontrollen, erfolglos; es hatte sich also bei der Infektion mit beiden Stämmen eine deutliche Immunität gegen den eigenen wie den fremden Stamm entwickelt.

In der gleichen Weise wie bei den Tierversuchen zeigte sich weitgehende Uebereinstimmung der beiden Stämme auch im

serologischen Verhalten.

Schon im Jahre 1917 hatten Ido, Ito, Wani und Okuda die Einwirkung von Rattenbiß-Rekonvaleszentenserum auf die Rattenbißspirillen des Meerschweinchenblutes untersucht, in vitro eine deutliche, wenn auch schwache Immunitätsreaktion nachgewiesen und auch eine Abtötung der Spirillen im Pfeifferschen Versuch beobachten können. Eine nur im Referat vorliegende Arbeit Yamadas aus demselben Jahr berichtet von einer Spirochätenagglutination mit dem Serum rattenbißkranker Kaninchen nur bis zur Verdünnung 1:8, während Kontrollversuche negativ ausfielen. 2 Jahre später führten Kusama, Kobayashi und Kasai mit einem vom Menschen herrührenden Rattenbißstamm, mit einem von einer wilden Ratte gewonnenen Virus und einem Feldmausstamm serologische Vergleichsprüfungen in Vitro- und in Tierversuchen aus und fanden, daß die Immunsera, die durch Verwendung des „Menschen“- oder „wilden Ratten“stammes gewonnen waren, eine deutliche spirochätozide Wirkung auf alle 3 Stämme ausübten, daß aber das Feldmausimmunserum nur den eigenen Stamm leicht, nicht aber die beiden anderen zu beeinflussen vermochte. Kasai hat dann im Jahre 1923 in einer japanischen Zeitschrift weitere Vergleichuntersuchungen veröffentlicht. Die liebenswürdige Zusendung des Originals verdanke ich der Redaktion des Tropical-Diseases-Bulletin, die Uebersetzung Herrn Dr. Tomioka-Tokio. Aus dieser Arbeit sei im Hinblick auf die eigenen Versuche Folgendes herausgegriffen: Kasai behandelte junge Katzen mit „Hausmaus“ bzw. mit „weiße Maus“spirochäten und verglich das Serum dieser Tiere mit Rattenbißantiserum hinsichtlich der Einwirkung auf die betreffenden drei Spirochätenstämme. Aus passiven Immunisierungsversuchen an Mäusen ergab sich, daß das weiße Mausantiserum gegen Rattenbiß- und Hausmausspirochäten gar nicht, gegen

weiße Mausspirochäten etwas wirkt. Bemerkenswert war ferner, daß sowohl das Rattenbiß- wie auch das Hausmausserum gegen Hausmausspirochäten schützt, nicht vollständig aber gegen Rattenbißspirochäten. Bakteriolytische Versuche, im Dunkelfeld beobachtet, ergaben ähnliche Resultate, nur zeigte sich das verdünnte Rattenbißantiserum wirksamer als das unverdünnte, und das Weißmausantiserum wirkte in vitro besser als im Tierversuch insofern, als es gegen Rattenbißspirochäten schwach, gegen Hausmausspirochäten mittelstark und gegen Weißmausspirochäten stark reagierte.

Auch Robertson berichtet über Immunitätsversuche, die er mit dem Serum von der Infektion genesener Meerschweinchen angestellt hatte. Gleiche Mengen von Serum und infektiösem Mäuseblut gemischt, ergab ein Unbeweglichwerden der Spirillen in 20 Minuten im Gegensatz zu Kontrollversuchen. Die Immunkörperbildung scheint aber recht schwach gewesen zu sein, da schon die Wirkung einer geringeren Verdünnung als 1:4 sehr schwach ausfiel. Blieb die Mischung aus gleichen Mengen Serum und infektiösem Mäuseblut 15 Min. stehen und wurde dann gesunden Mäusen injiziert, so zeigten diese im Gegensatz zu den Kontrollmäusen, die reichlich Spirillen schon nach 6 Tagen aufwiesen, erst beträchtliche Zeit später, und dann erst nach sorgfältigem Suchen, spärlich Spirillen.

Für die nunmehr mitzuteilenden eigenen Versuche wurden 6 Kaninchen wiederholt intravenös bzw. intraperitoneal bzw. subkutan mit einer 0,85proz. NaCl-Aufschwemmung von stark spirillenhaltigem Mäuseblut (3 Kaninchen mit Elberfeld-, 3 Kaninchen mit Rattenbißvirus) injiziert und die Einwirkung des Serums dieser Kaninchen auf beide Spirillenarten im Dunkelfeld und gegebenenfalls auch im Tierversuch an der Maus geprüft. Für die ersteren Versuche wurden gleiche Mengen von gut infiziertem Mäuseblut (im Gesichtsfeld mindestens 5—8 Spirillen) und Kaninchenantiserum auf dem Objektträger gemischt, mit dem Deckglas bedeckt und das Präparat zur Verhütung der Austrocknung mit Paraffin umrandet. Das Antiserum kam sowohl unverdünnt als auch in 5-, 10-, 20-, 50- und 100fachen Verdünnungen zur Anwendung und wurde im aktiven wie auch im inaktivierten Zustande geprüft. Als Kontrolle diente normales aktives bzw. inaktiviertes Kaninchenserum, unverdünnt oder in entsprechenden Verdünnungen. Die Beobachtungszeit für diese Vitroversuche betrug durchschnittlich 3 Stunden. Bei all diesen Untersuchungen machte sich der Mangel einer Kultur, die trotz Anwendung verschiedenster Züchtungsverfahren weder von den Elberfeld- wie von den Rattenbißspirillen gewonnen werden konnte — eine Kultur des Rattenbißvirus ist bisher nur Futaki und Mitarbeitern gelungen —, als außerordentlicher Nachteil geltend, da ja die — wenn auch reichlich Spirillen enthaltende — Mäuseblut-NaCl-Aufschwemmung kaum je hinsichtlich der Zahl der Erreger den in einer Reinkultur erhältlichen Mengen gleichkommen kann. Nicht zuletzt aus diesem Grunde wurden die Tierversuche hinsichtlich ihrer Bewertung höher eingeschätzt. Diese Untersuchungen wurden nun so ausgeführt, daß 0,2 ccm von spirillenhaltigen Mäuseblut-NaCl-Aufschwemmungen (20 Tropfen Blut der Schwanzvene + 1 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung) mit 0,2 ccm Antiserum (bzw. Antiserumverdünnungen) gemischt und dann entweder sofort oder nach $^1/_2$- bzw. 1- bzw. 2stündigem Binden gesunden Mäusen intraperitoneal bzw. subkutan injiziert wurden. Zur Kontrolle diente normales Kaninchenserum

bzw. Verdünnungen desselben. Der Umstand, daß die Kaninchenantisera durch Injektion spirillenhaltigen Mäuseblutes gewonnen waren und diese somit auch Antikörper gegenüber Mäuseblut enthielten, machte sich bei der Durchführung dieser Versuche an Mäusen — eine Verwendung von Meerschweinchen war seinerzeit aus äußeren Gründen, besonders auch wegen der großen Versuchsreihen nicht möglich — oft störend bemerkbar. Um diesen Faktor auszuschalten, wurde später bei sonst gleicher Versuchsanordnung das Serum von Kaninchen verwandt, welche die durch Impfung am Scrotum erfolgte Infektion überstanden hatten.

Aus all diesen Versuchen ergab sich für beide Stämme in gleicher Weise eine verhältnismäßig geringe Wertigkeit der Immunsera. Die in vitro zu beobachtende Einwirkung des aktiven wie inaktiven Serums, die sich höchstens noch bei 20fachen Verdünnungen feststellen läßt, besteht in einer Bewegungshemmung, die zu einer vollständigen Auflösung der Spirillen führen kann, wobei sich allerdings — wenn auch keineswegs regelmäßig — zeigte, daß das aktive Serum rascher als das inaktive wirkte; eine Verstärkung des inaktiven Serums durch Komplement ließ sich nicht erzielen. Dagegen war ein Uebergreifen der Sera deutlich ausgesprochen, und zwar beeinflußte das Rattenbißantiserum nicht nur den Rattenbißstamm, sondern auch die Elberfelder Mäusespirillen, und zwar die letzteren meist noch in stärkerem Grade, während die mit dem Mäusespirillenstamm gewonnenen Immunsera den homologen stärker als den heterologen Stamm beeinflußten. Auch bei den Tierversuchen wirkte das Rattenbißantiserum auf beide Stämme und ebenfalls sogar stärker auf das Elberfeldvirus, während das Mäusespirillenserum bisher einen sicheren Schutz nur gegenüber dem eigenen Stamm abgab, gegenüber dem Rattenbißvirus aber im allgemeinen versagte. Aus diesen Ausführungen geht also hervor, daß auch in serologischer Hinsicht außerordentlich nahe Beziehungen zwischen den beiden Stämmen bestehen. Das gleiche zeigte sich auch im

chemotherapeutischen Verhalten.

Es ist durch die Untersuchungen japanischer Autoren (Futaki und Mitarbeiter, Ishiwara, Ohtawara und Tamura) schon bekannt, daß die Rattenbißspirillen durch Salvarsan gut beeinflußbar sind, daß dieselben aber später bei den Tieren immer wieder auftreten können. Diese Angaben können von mir bei entsprechenden Versuchen mit Salvarsannatrium bestätigt werden. Es wurden 10 Rattenbiß- und 7 Elberfeld-Spirillenmäuse teils subkutan, teils intravenös mit Salvarsannatrium behandelt, und zwar mit Gaben von 2,25—4 mg pro 20 g Körpergewicht. Bei 4 Rattenbißmäusen, die nur 2,25 mg erhalten hatten, kam es nach höchstens 7tägigem Verschwinden der Spirillen zum Rezidiv, wobei die Applikationsart (subkutan oder intravenös) kaum einen Unterschied in der Wirkung erkennen ließ; auch verhältnismäßig hohe intramuskuläre Gaben von 3 und 4 mg führten bei beiden Stämmen bei 6wöchentlicher Beobachtung mit je einer Ausnahme, von denen die 6 bzw. 8 Wochen nach der Behandlung verstorbenen Tiere in diesem Zeitraum dauernd frei von Spirillen gewesen waren, nach anfänglichem Verschwinden stets wieder zum Rezidivieren der Spirillen im Blut. Bei den täglich vorgenommenen Dunkelfeldbeobachtungen des Blutes zeigten von den mit 3 und 4 mg injizierten Mäusen nach der Behandlung am

18. Tage je eine Elberfeld- und Rattenbißmaus, am 25. Tage 3 Rattenbiß- und 2 Elberfeld-Mäuse und am 40. Tage 1 Rattenbiß- und 2 Elberfeld-Mäuse Spirillenrezidive; 1 Elberfeld-Maus starb am 4. Tage nach der Injektion interkurrent.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen lassen sich dahin zusammenfassen, daß es sich bei der Spirochaeta morsus muris Futaki nicht um eine Spirochäte, sondern um ein Spirillum handelt, das dem bei unseren Mäusen vorkommenden Spirillum außerordentlich nahesteht, wenn nicht identisch ist. Dafür spricht das absolut gleiche morphologische Verhalten, das im allgemeinen gleiche Bild bei der Infektion von Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen und schließlich die Uebereinstimmung in serologischer und chemotherapeutischer Hinsicht. Man wird daher auch bei uns mit dem Vorkommen von Rattenbißerkrankungen zu rechnen haben, und es sind ja auch bisher derartige Fälle in der Literatur schon bekannt (in Deutschland: Vorpahl). Allerdings dürften solche Fälle bei uns nur in beschränktem Maße vorkommen können, da wohl die hygienischen Verhältnisse eben in den westlichen Ländern im allgemeinen wesentlich günstiger liegen als in Japan, und da möglicherweise auch die wilden Ratten bei uns seltener infiziert sein könnten.

Literatur.

Adachi, K., Journ. of exper. Med. Vol. 33. 1921. p. 647. — Borrel, A., Compt. rend. Soc. de Biol. T. 58. 1905. p. 770. — Breinl, A., u. Klinghorn, A., Lancet. Vol. 2. 1906. p. 651. — Carter, V., zitiert nach Ishiwara, Otawara u. Tamura. — Deetjen, H., Münch. med. Wochenschr. 1908. S. 1167. — Futaki, K., Takaki, I., Taniguchi, T., u. Osumi, S., Journ. exper. Med. Vol. 23. 1916. p. 249; ibid. Vol. 25. 1917. p. 33. — Dieselben, Iji Shimbun (Med. News). 1917. p. 1513—1519, und Tokyo Igakukai Zasshi (Mitteil. Med. Ges. zu Tokio). Bd. 31. 1917. S. 83—89; ref. im Tropic. Diseas. Bullet. Vol. 13. 1919. p. 338—339. — Ido, Y., Ito, H., Wani, H., u. Okuda, K., Journ. exper. Med. Vol. 26. 1917. p. 377. — Ishiwara, K., Otawara, T., u. Tamura, K., Tokyo Igakwai Zasshi. Vol. 30. 1916. p. 52—54; ref.: Tropic. Diseas. Bullet. Vol. 9. 1917. p. 497. — Dieselben, Journ. exper. Med. Vol. 25. 1917. p. 45. — Kaneko, R., u. Okuda, K., Ibid. Vol. 26. 1917. p. 363. — Kasai, K., Saikingaku Zasshi. 1922. Nr. 324; Japan. Medic. World. Tokyo. Vol. 3. 1923. p. 54; ref. im Tropic. Diseas. Bullet. Vol. 20. 1923. p. 581. — Kitakawa, T., Saikingaku Zasshi. 1916. p. 75; ref. im Tropic. Diseas. Bullet. Vol. 9. 1917. p. 496. — Kusama, S., Kobayashi, R., u. Kasai, K., Journ. inf. Dis. Vol. 24. 1919. p. 366. — Lingard (1899), zitiert nach Robertson. — Mac Neal, W. J., Proc. Soc. for exper. Biol. a. Med. Vol. 4. 1907. p. 125; zit. nach Robertson. — Matsumoto, Shin-Ichi, und Adachi, Yogoro, Acta dermatol. Bd. 1. 1923. S. 403. — Matsuzaki, S., und Tsunemochi, R., Tokyo Iji Shinji. 1917. p. 2335. — Ogata, Mitteil. med. Fakult. Univ. Tokyo. Vol. 8. 1908. p. 287; Vol. 9. 1911. p. 343; ibid. Vol. 11. 1913—1914. p. 179. — Parmanand, M. J., Indian Journ. of med. Research. Vol. 11. 1923. p. 181; ibid. Vol. 12. 1925. Nr. 4. — Robertson, A., Ann. of trop. Med. a. Parasit. Vol. 18. 1924. p. 157. — Takenaka, S., Acta dermatol. Vol. 4. 1924. p. 271. — Tsuneoka, R., Kyoto Igaku Zasshi Vol. 14. 1917. p. 46. — Vorpahl, F., Münch. med. Wochenschr. 1921. S. 275. — Wenyon, C. M., Journ. of Hyg. Vol. 6. 1906. Nr. 5. — Yamada, J., Tokyo Iji Shinji. 1917. Nr. 2054. p. 2577; ref. im Tropic. Diseas. Bull. Vol. 13. 1919. p. 338. — Zuelzer, M., Centralbl. f. Bakt. Bd. 85. 1921. S. 154*. Beiheft.

Nachtrag bei der Korrektur.

Da obige Untersuchungen bereits im April vorigen Jahres abgeschlossen und im Mai 1925 in der Berl. Ges. f. Mikrobiol. mitgeteilt worden sind, sind noch einige Befunde aus in den letzten Monaten erschienenen experimentellen Arbeiten kurz zu erwähnen. H. Mooser

fand bei einer von 20 in der Stadt Mexiko gefangenen wilden Ratten (Mus decumanus) Erreger, die mit dem in Japan beschriebenen Sodoku-Virus identisch waren. Dem Autor gelang die Bißübertragung von Meerschweinchen zu Meerschweinchen in einem von 2 Fällen; allerdings hatte das beißende Tier eine Rattenbißkeratitis und Konjunktivitis, deren Sekret vielleicht auch bei der Uebertragung der Krankheit in diesem Fall eine Rolle hat spielen können. — Intravenöse Neosalvarsaninjektion brachte bei 2 Meerschweinchen die Erreger nur vorübergehend im Blute zum Verschwinden und hinderte nicht, daß die Tiere in üblicher Weise der Infektion erlagen. — Von 26 infizierten Ratten, deren Infektion 4—5 Monate zurücklag, zeigten 17 eine Konjunktivitis, bzw. eine Keratokonjunktivitis, deren Sekret zwar im Dunkelfeld Erreger nicht erkennen ließ, sich aber bei der Uebertragung auf Ratten und Meerschweinchen als infektiös erwies. Die Erreger selbst hält der Verfasser für Spirochäten, da er bei ihnen auch ein Beugen des Körpers („bending of the body") beobachtete. Bei Versuchen an Kaninchen ergab sich, daß ungefähr 8 Tage nach der primären Infektion (subkutane Inokulation von Spirochäten) ödematöse Schwellungen und Entzündungen am Kopf und Genitale auftraten; es wird dabei aber ausdrücklich betont, daß auf Ausschaltung von Tieren mit spontaner Kaninchenspirochätose besondere Aufmerksamkeit gerichtet wurde. In einem Falle konnte Mooser sogar die Uebertragung der Rattenbißinfektion von Kaninchen zu Kaninchen durch den Coitus beobachten. —

Aus mehreren Arbeiten von Salimbeni, Kermorgant und Garcin seien folgende Befunde berichtet. Bei ihren Versuchen an Meerschweinchen stellten die Autoren — übereinstimmend auch mit meinen Erfahrungen — die besondere Empfindlichkeit junger Tiere fest; junge Meerschweinchen starben in 12—15 Tagen, während ältere die Infektion 2—3 Monate ertrugen. Die Verfasser unterscheiden 2 unabhängig von der Inokulationsart (subkutan oder peritoneal) auftretende Formen der Meerschweinchenkrankheit, eine besonders bei Albinos vorkommende kutane und eine sonst beobachtete viszerale Form. Beide Arten zeigen Parasiten im Blut in sukzessiven Perioden, bei der viszeralen Form falle die starke Milzvergrößerung auf, während bei dem kutanen Typ sich zunächst ein erysipelatöses Oedem der Schnauze, der Ohren und der Umgebung des Auges ausbilde. Das Oedem enthält reichlich Spirillen. Dieses Bild verschwindet und rezidiviert in immer kürzeren Abständen, bis allmählich eine chronische ödematöse Infiltration mit weißlichem Aussehen sich ausbreite. Die Autopsie ergebe bei diesen Tieren nur eine deutliche Nebennierenvergrößerung.

Eine weitere Arbeit dieser Autoren enthält eine sehr wichtige Mitteilung über die hereditäre Uebertragung der Rattenbißkrankheit beim Meerschweinchen. 2 infizierte Tiere werden nur zur Kopulation zusammenbelassen und hernach sogleich getrennt. Das Weibchen wirft rechtzeitig 2 Junge, von denen das eine gesund erscheint, das andere folgende Deformitäten aufweist: abnorm großer, mißbildeter Schädel, vorspringendes und verlängertes Schambein, überzählige Zehe an der linken Hinterpfote, beiderseitige Keratitis interstitialis. 3 Tage nach der Geburt zeigt das Blut beider Jungen Spirillen. Das dystrophische Tier starb 31, das gesund aussehende 68 Tage alt; beide zeigten bei der Autopsie starke Milzvergrößerung. Bei sehr strenger Kritik könnte man für das normal aussehende Junge die Infektion durch einen Biß des Muttertieres

mit sehr kurzer Inkubation erfolgt denken, während für das dystrophische keine andere Erklärung als die kongenitale Infektion möglich sei.

Bei ihren Versuchen an Mäusen führte die Verfasser der auffällige Gegensatz der hohen Infektiosität der Milz infizierter Mäuse zu der außerordentlich seltenen Möglichkeit des direkten Nachweises der Erreger in diesem Organ (bei Verwendung der verschiedensten Färbetechnik) zu der Vermutung, ob die Spirille im Organismus unter schwerer erkennbaren Formen (Granulastadien) existieren könne und ob diese dann imstande wären, Filter zu passieren, die Bakterien zurückzuhalten in der Lage wären.

Technik: Die Milz einer infizierten Maus wird auf einem Metallsieb fein zerrieben und der Brei 1:30 mit physiol. NaCl-Lösung verdünnt. Die so erhaltene Emulsion wird dann über Baumwolle filtriert und das Filtrat durch eine Chamberland-Kerze (L^3) aspiriert (40 cm Hg). Vor der Kerzenfiltration werden der Flüssigkeit einige Tropfen einer Bouillonkultur des Kokkobazillus der Hühnercholera zugesetzt, eines Bakteriums, das 2mal kleiner ist als die kleinsten Formen des Rattenbißvirus. Die Verimpfung des Kerzenfiltrates auf Bouillon ergibt kein Bakterienwachstum, was beweist, daß der Hühnercholerabazillus durch das Filter zurückgehalten worden ist. Die subkutane Verimpfung von 5 ccm des Filtrates auf die Maus ergibt aber eine ebenso schwere Infektion wie die mit dem nicht filtrierten Milzbrei aufgeführte Inokulation.

Das Rattenbißvirus existiert also nach dem Befunde dieser Autoren in der Milz experimentell infizierter Mäuse in Formen, die fähig sind, Bakterien zurückhaltende Filter zu passieren. Diese Formen müssen kleiner sein als 1:0,4 μ, die Durchschnittsmaße des Kokkobazillus der Hühnercholera.

In der Wiener klin. Wochenschrift teilte Takaki mit, daß in Wien in einem Fall durch Uebertragung des Blutes einer gesunden Ratte auf die Maus die Spirochaeta morsus muris im Blute der infizierten Maus mittels Dunkelfeld und Färbung nach Giemsa mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Damit sei das Vorhandensein dieser Spirochäten auch bei Wiener Ratten erwiesen. Zu einem ähnlichen Resultat für die Ratten von Amsterdam kommt A. Ch. Ruys in ihrer Dissertationsarbeit vom Juli 1925, deren Schlußsätze wegen ihrer Beziehung zu den oben mitgeteilten Ergebnissen ausführlicher angegeben werden sollen. Die Verfasserin fand, daß die Ratten von Amsterdam in der 2. Hälfte des Jahres 1924 in einem kleinen Prozentsatz (3 von 250) die Anwesenheit von Rattenbiß-Spirillen (Spirillum minus varietas morsus muris) zeigten. Bei den Mäusen des Krebs-Institutes von Amsterdam kommt das Spir. minus var. muris vor. Diese beiden Spirillenstämme sind morphologisch vollkommen gleich. Das Spir. min. var. muris ist nicht pathogen für Meerschweinchen, während das Spir. min. var. morsus muris imstande ist, Meerschweinchen und Affen krank zu machen. Die Stämme von Spir. min. var. mors. muris aus Ratten und ein Stamm dieser Erreger, der von einem Patienten herrührte, waren vollkommen gleich, sowohl was Morphologie wie Tierpathogenität und Serologie anbetrifft. Serologische Untersuchungen mit diesen „Rattenstämmen" und dem „Menschenstamm" zeigten, daß Sera von Affen, Kaninchen und Meerschweinchen, die mit einem von den 3 Rattenstämmen behandelt waren, eine tötende und lysierende Wirkung auf die 3 Rattenstämme, den Menschen- und Mäusestamm hatten, während das Serum eines mit Spir. min. var. muris behandelten Kaninchens keinen Einfluß auf die Spirillen ausübte. Auf Grund der geringeren Tierpathogenität des Mäusestammes und der Tatsache, daß dieser Stamm beim Kaninchen keine Antikörper erzeugen kann, hält die Verf.

die Gegenüberstellung desselben zu dem Menschen- und Rattenstamm für berechtigt und bezeichnet den Mäusestamm nach dem Vorgang von Kasai als besondere Varietät. Zur Hervorhebung der Unterschiede schlägt sie für das bei weißen Mäusen vorkommende Spirillum den Namen Spirillum minus varietas muris, für das bei Menschen und Ratten vorkommende Spirillum die Bezeichnung Spirillum minus varietas morsus muris vor. Spirillen nennt die Verf. das Virus deswegen, weil nach ihren Untersuchungen diese Organismen nicht in das System der Spirochäten (Noguchi) gehören, sondern den Spirillen näher ständen und mit uns bekannten Formen dieser letzteren Verschiedenes gemeinsam haben.

Literatur.

Mooser, H., Journ. of exp. Med. Vol. 39. 1924. p. 589 u. Vol. 42. 1925. Nr. 4. — Ruys, A. Ch., Doktor-Dissertation. Amsterdam. Juli 1925. — Salimbeni, A. T., Kermogant, Y. et Garcin, R., Compt. rend. des séanc. de la soc. de biol. T. 93. 1925. p. 229. 335. 337. — Takaki, J., Wien. klin. Wochenschr. 1925. Nr. 37.

Ein Beitrag zur Frage des Entstehens der postvakzinellen Lähmungen bei Lyssa.

[Aus der Wutschutzabteilung am Hygienischen Institut (Dir. Geh. Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer) und der Medizinischen Klinik (Dir. Geh. Rat Prof. Dr. Minkowski) der Universität Breslau].

Von Dr. **Gerhard Quast** und Dr. **Hans Licht,** Assistenten.

Man weiß seit langem, daß im Verlauf und kurz nach Beendigung der Schutzimpfung gegen Tollwut Gesundheitsstörungen auftreten, die von leichtem Unbehagen über kurz dauernde Paresen nur eines Nerven — besonders des N. facialis — oder der unteren Extremitäten sich bis zu dem fast immer tödlich endenden Bilde der Landryschen Paralyse steigern können. Die Ursache dieser Schädigungen ist bis heute ungeklärt. Der Ansicht der einen, daß es sich dabei um eine durch die Impfung beeinflußte Straßenwutinfektion handelt, steht die Ansicht der anderen gegenüber, daß die Lähmungserscheinungen durch die Impfung selbst hervorgerufen werden. Es scheint auf den ersten Blick, daß tödlich verlaufene Fälle, deren Rückenmark oder Gehirn Kaninchen mit dem Erfolge eingeimpft wurden, daß entweder das Bild der Straßenwut oder das der Impflyssa hervorgerufen wurde, geeignet sind, eine Klärung der Sachlage zu bringen. Daß aber diese Befunde anders zu deuten und in ätiologischer Hinsicht bezüglich der Entstehung der Lähmungen nicht ohne weiteres verwertbar sind, soll an Hand eines Falles, der vor einiger Zeit hier beobachtet wurde, dargelegt werden.

Der zwölfjährige Schüler Max J., der stets gesund war und nie Zeichen einer nervösen Erkrankung dargeboten hatte, wurde von einem Hunde, bei dem durch den Nachweis von Negrischen Körperchen die Tollwut sichergestellt war, mehrere Male in den rechten Unterschenkel gebissen. Nachdem die tiefen Wunden sofort ausgewaschen, nicht ausgebrannt waren, wurde der Knabe am gleichen Tage der Wutschutzabteilung zugeführt und die Impfung sofort begonnen. Die Behandlung erfolgte nach der in Deutschland zurzeit üblichen, von Philipps modifizierten Methode von Högyes.

Am Tage der Entlassung bekam der Patient heftige Kopfschmerzen und reißende Schmerzen in beiden Beinen. Eine besondere Schmerzhaftigkeit der Wunden wurde nicht beobachtet.

Status.

Es handelt sich um einen mittelgroßen Jungen in gutem Ernährungszustand. Die Haut und die sichtbaren Schleimhäute sind gut durchblutet. Keine vergrößerten Lymphdrüsen.

Hals und Rachen: o. B., keinerlei Schlingbeschwerden.

Herz und Lungen: o. B.

Abdomen: weich, keine défense musculaire. Milz und Leber nicht vergrößert. Im Urin kein pathologischer Befund, nur die Indikanprobe fällt positiv aus.

Temp. 38,1, Puls 114 pro Min., Blutdruck 110/55.

Blutbild: Hgb. 70 Proz., Erythrozyten 3 900 000, Leukozyten 12 000, Neutr. 85 Proz., Lymphoz. 12 Proz., Mono. 1 Proz., Eosin. 2 Proz.

Neurologischer Befund: Sensorium frei. Patient ist ruhig, klar, ein wenig schläfrig, gibt auf alle Fragen gute Auskunft. Pupillen reagieren auf Licht und Konvergenz. Kornealreflex +.

An den Armen keine Motilitäts- und Sensibilitätsstörungen. Schlaffe Lähmung beider Beine. Die Empfindlichkeit für Berührung, Schmerz und Temperatur ist von D_{12} an erloschen; nur die Zonen L_5, S_1 sind hyperalgetisch.

Patellar-, Achillessehnen- und Cremasterreflexe fehlen. Bauchdeckenreflexe sind vorhanden. Kein Babinski, kein Oppenheim. Blasen-, Mastdarmlähmung.

Während der Nacht ist Pat. sehr unruhig, hat heftige Kreuzschmerzen. Er erhält 2mal Scopol 0,0005, Morphin 0,005.

Am folgenden Tage hat sich das Allgemeinbefinden scheinbar gebessert. Die Schmerzen haben nachgelassen, so daß keine Narkotika gegeben werden. Pat. hat Hunger und Durst; er ißt ein wenig, verlangt nach Wasser und trinkt es. Er schläft die Nacht über.

Temperatur: morgens 37,8, abends 38,2.

Am nächsten Morgen macht sich eine leichte Schwäche im rechten Arm bemerkbar. Motorische Kraft rechts schwächer wie links. Sonst neurologisch keine Veränderung. Pat. ißt und trinkt. Sensorium frei. Er klagt über Schmerzen im Genick.

Temperatur: morgens 37,5, abends 37,9.

Gegen 10 Uhr nachts rapide Verschlimmerung. Pat. bietet das Bild eines schweren Lungenödems. Aderlaß: Lobelin, Adrenalin, Digitalis, Kampfer, Koffein, 30 ccm einer 50proz. Traubenzuckerlösung intravenös. Das Oedem geht zurück. Pat. ist sehr unruhig, verlangt fortwährend zu trinken; trinkt 1—2 Schluck Wasser ohne Widerstreben.

Am folgenden Tage: Temperatur 40,0. Puls nicht zu fühlen.

Stündlich Kampfer, Koffein. Parese des rechten Armes. Bauchdeckenreflexe fehlen. Es besteht Dyspnoe. Gegen Mittag Cheine-Stokes-Atmen. Unter den Zeichen der Atemlähmung 3 Uhr 45 Min. p. m. Exitus letalis.

Sektionsbefund (Path. Institut Breslau):

Pneumonia crouposa pulm. dextr. Malacia med. spinalis.

Halsorgane: o. B.

Die rechte Lunge ist voluminös und von fester Konsistenz. An der Schnittfläche quillt blutig-seröses Exsudat hervor. Die Lunge enthält fast keine Luft. Linke Lunge o. B.

Herz und Gefäße: o. B.

Das Gehirn ist von normaler Konsistenz und Farbe. An der Schnittfläche sind reichliche Blutpunkte wahrnehmbar, die allmählich zerfließen. Bei Eröffnung der Durahüllen des Rückenmarks zeigt sich in Höhe von D_3 und D_4 ein haselnußgroßer Erweichungsherd. Im Hals- und Lendenmark zeigt sich absteigende bzw. aufsteigende Degeneration. Die histologische Untersuchung ergibt eine Nekrose in der Höhe von D_3 und D_4. Sonst sind keine groben Veränderungen vorzufinden. Negrische Körperchen wurden in keinem Teil des Gehirns nachgewiesen.

Milz etwas groß. Leber von normaler Farbe und Konsistenz.

Magen und Darm o. B. Harn- und Geschlechtsorgane o. B.

Mit dem Ammonshorn, dem verlängerten Mark und Teilen des dem Erweichungsherde benachbarten Rückenmark wurden Kaninchen subdural geimpft. Die mikroskopische und kulturelle Untersuchung des Erweichungsherdes auf andere Mikroorganismen war ohne Resultat. Von den so behandelten Tieren erkrankten nur die Tiere, die mit dem verlängerten Mark infiziert waren, und zwar am 17. Tage nach der Infektion unter dem Bilde der für Kaninchen typischen Wuterkrankung. Im Gehirn dieser Tiere waren zahlreiche Negrische Körperchen nachweisbar. Uebertragungsversuche auf weitere Kaninchen mißlangen.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen — die lange Inkubationszeit, die Negrischen Körperchen — spricht dafür, daß in dem verimpften Mark Straßenwutvirus enthalten war.

So sehr man hiernach geneigt ist zu folgern, daß die tödliche Myelitis durch das im Mark durch Verimpfung nachgewiesene Straßenwutvirus hervorgerufen sei, so hat man doch folgendes zu berücksichtigen: Paltauf[1]) ist es gelungen, bei 4 Schutzgeimpften, die durch einen tollen Hund gebissen und durch interkurrente Krankheiten ad exitum gekommen waren, im Gehirn Straßenwutvirus nachzuweisen, ohne daß zuvor irgendwelche Zeichen einer Lyssa oder nervösen Störung beobachtet werden konnten. Daraus folgert, daß das Vorhandensein von Straßenwutvirus im Gehirn und Mark an Lähmung Verstorbener nicht als unbedingter Beweis herangezogen werden darf, daß die Lähmung durch das Straßenvirus hervorgerufen ist. Auch in unserem Falle halten wir uns nicht zu der Annahme berechtigt, diesen als eine — durch die Impfung modifizierte — Straßenlyssa anzusehen und die u. E. berechtigten Einwände gegen die Auffassung der Lähmungen als atypische Lyssa humana zu entkräften. Es ist doch auffallend, daß man im Gehirn der unter dem Bilde der Landryschen Paralyse Verstorbenen — wo sich die Schwere der Infektion darin zeigt, daß sie meist innerhalb weniger Tage tödlich verläuft — niemals Negrische Körperchen gefunden hat, während sie im Gehirn der an echter Straßenwut verstorbenen Menschen in ca. 86 Proz. gefunden werden.

Als gewichtigster Gegengrund ist aber folgender anzuführen: Es sind Fälle von postvakzinaler Paralyse beobachtet worden, in denen der Betreffende von sicher nicht tollen Tieren oder überhaupt nicht gebissen worden ist [Simon[2]), Borger[3]), Forschbach[4])].

Alles dies veranlaßt uns, die Ansicht derer abzulehnen, die in den Fällen von Lähmung nach Schutzimpfung eine „atypische Straßenwut" sehen. Die Tatsache, daß die Myelitis nur bei Schutzgeimpften beobachtet wird, spricht ebenfalls dafür, daß die Impfung selbst dafür verantwortlich gemacht werden muß. Darauf möchten wir aber von vornherein hinweisen, daß das doch immerhin sehr seltene Auftreten

---

1) Paltauf, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 22. 1909.
2) Simon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68.
3) Borger, zitiert nach Simon.
4) Forschbach, Ztschr. f. klin. Med. Bd. 86. S. 366.

einer sicheren Impfschädigung nicht der Grund dafür sein darf, die einzige uns zu Gebote stehende Maßnahme der eventuellen Abwendung einer tödlichen Infektion fallen zu lassen.

Es entsteht nun die Frage: ist es das Virus fixe, oder sind es andere. toxische Substanzen, die zu der Schädigung führen?

Das Virus fixe dafür verantwortlich zu machen, obwohl es nahe zu liegen scheint, begegnet aber so großen Bedenken, daß man auch diese Theorie fallen lassen muß. Denn es ist bisher nicht gelungen, mit dem Mark der an Myelitis Gestorbenen bei damit geimpften Kaninchen die so typische Virus fixe-Infektion zu übertragen, auch nicht bei Fällen von Landryscher Paralyse. Hier müßte es doch leicht gelingen, durch das für Kaninchen so hochpathogene Virus fixe eine Laboratoriumswut der Tiere zu erzielen. Allerdings dürfte nach neueren Erfahrungen auch eine etwaige positive Uebertragung des Virus fixe nicht mehr als voll beweiskräftig erscheinen, nachdem Quast[1]) Virus fixe im Gehirn eines schutzgeimpften Patienten nachgewiesen hat, der ohne spezifische Nervenerscheinungen an einer interkurrenten Erkrankung ad exitum gekommen war. Vielmehr kann man annehmen, daß das Vorkommen von Virus fixe im Gehirn Schutzgeimpfter analog den oben erwähnten Paltaufschen Beobachtungen zu verwerten ist. Der ausschlaggebende Grund dürfte aber der sein, daß es auch zu Lähmungsfällen nach Impfungen kommt, bei denen durch Erhitzen des Markes mit Sicherheit das Virus fixe abgetötet ist (Methode Babes und Puscariu).

Babes und andere betrachten nun als Ursache der Lähmungen, die ja fast immer unter dem Bilde einer schweren Infektion — Fieber, Leukozytose — einhergehen, spezifische Toxine des Virus fixe. Mit keimfreien Filtraten aus Hirnsubstanz lyssakranker Tiere, nicht mit solchen normaler Tiere, konnte B. schwere allgemeine und auch nervöse Schädigungen hervorrufen. R. Kraus[2]) dagegen gelang es, Gehirnextrakte auch von gesunden Tieren zu gewinnen, die für Kaninchen sich giftig zeigten. Er glaubt deshalb nicht an die Spezifität der Babesschen Gifte und nimmt mit E. Müller und anderen toxische Substanzen des Rückenmarkes als Ursache der Lähmungen an, wobei er es unentschieden läßt, ob es sich hier um eine primäre Toxizität der Kaninchennervensubstanz handelt oder ob die Schädigung erst auf durch die Injektion entstandenen zytotoxisch wirkenden Antikörper zurückzuführen ist. Nun haben in jüngster Zeit Koritschoner und Schweinburg[3]) durch ausgedehnte Versuche den Beweis zu erbringen gesucht, daß die Injektion von Nervensubstanz an sich als Ursache der Lähmungen anzusehen ist. Sie impften eine Reihe Kaninchen subkutan mit sterilem Rückenmark menschlicher Leichen nach den verschiedenen Methoden der Lyssaimmunisierung. Dabei stellte sich heraus, daß die Kaninchen, die nach den Methoden, die große Mengen Rückenmarksubstanz gebrauchen, geimpft wurden, durchweg stark abmagerten, eine Reihe an schlaffer Lähmung erkrankte und zum Teil einging. Die Sektion ergab Hyperämie und Oedem des

---

1) Quast, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 7.
2) Kraus, R., Wien. klin. Wochenschr. Bd. 37. 1924. S. 661.
3) Koritschoner u. Schweinburg, Ztschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 42. S. 217.

Markes, kleine Blutungen vorwiegend in der grauen Substanz, z. T. auch perivaskuläre Infiltrate. Tiere, die nach der Methode Högyes geimpft wurden, blieben während und nach der Kur ohne irgendwelche Gesundheitsstörungen, die Gewichtsabnahme war sehr gering. Tiere, die mit anderen Organextrakten (Muskel, Leber, Milz, Hoden) geimpft wurden, blieben größtenteils gesund; ein Tier allerdings, das mit Muskelextrakt gespritzt worden war, ging ebenfalls unter dem Bilde einer Myelitis (histologisch nachgewiesen) ein. Aus diesen interessanten Versuchsergebnissen glauben die Autoren zu dem Schluß berechtigt zu sein, daß die injizierte Rückenmarksubstanz die postvaccinalen Lähmungen verursache, vielleicht dadurch, daß im Organismus des Geimpften Stoffe entstehen, die zytotoxisch oder fermentativ abbauend auf die Nervensubstanz einwirken. Ob diese weitgehenden Schlüsse voll berechtigt sind, müssen entsprechende Nachuntersuchungen ergeben. Babes, Remlinger und andere haben durch Injektionen von normalem Rückenmark niemals Lähmungen auftreten sehen — allerdings bei einem kleineren Material. Auch wir haben — bisher ebenfalls nur in kleinerem Umfange — 13 Kaninchen mit Rückenmark menschlicher Leichen nach der Methode von Pasteur geimpft und die Gewichtskurve genau verfolgt. Dabei ergab sich, daß nur ein Tier ad exitum kam, bei dem die Sektion eine eitrige Peritonitis zeigte. Ein Tier, das sehr deutlich abmagerte, hatte starke Durchfälle. Lähmungserscheinungen wurden bei keinem Tier beobachtet. Alle anderen Tiere zeigten nur unbedeutende Schwankungen nach oben und unten in ihrer Gewichtskurve, in gleicher Weise wie das Kontrolltier, das bei der gleichen Ernährung gehalten wurde.

Die auffallende Tatsache, daß eine so deutliche Erscheinung, wie sie die allgemeine Abmagerung der Tiere bei Koritschoner und Schweinburg darstellt, in unseren Versuchen, die nach dem gleichen Prinzip angestellt waren, nicht zutage trat und auch in ähnlichen Versuchen von anderen Autoren vermißt wurde, läßt die Frage aufwerfen, ob es nicht noch nicht näher gekannte Virusarten, die mit dem Mark bei der Verimpfung in den Körper des Geimpften gelangen, sind, die schweren allgemeinen und spezifisch nervösen Symptome hervorrufen. Wir glauben, daß Untersuchungsergebnisse einiger Forscher in der Enzephalitisfrage bei der Wertung der Resultate von Koritschoner und Schweinburg berücksichtigt werden müssen. Es bestehen nämlich Beobachtungen, daß Gehirn von Menschen, bei denen sich klinisch eine Enzephalitis nicht hatte nachweisen lassen, bei der Verimpfung auf Kaninchen imstande ist, bei den Tieren eine Enzephalitis hervorzurufen, die sich auf weitere Tiere übertragen ließ. Eine Bestätigung dieser Beobachtungen wurde durch Versuche von Jahnel und Illert[1]) erbracht. Sie verimpften Gehirn von in schwerem Siechtum Verstorbenen und Liquor von Patienten im terminalen Zustand auf Kaninchen. Fälle von Infektionen des Zentralnervensystems waren ausgeschlossen. Die Kaninchen wurden mit dem Material, das vorher auf seine Sterilität geprüft worden war, subkutan, nicht subdural geimpft. Bei den so behandelten Tieren ließ sich zuweilen, nicht regelmäßig, eine nicht spezifische Enzephalitis nachweisen, die in Tierpassagen weiter verimpfbar war, und von der die beiden Autoren an-

1) Jahnel u. Illert, Klin. Wochenschr. 1923. S. 1731.

nehmen, daß sie durch gewisse, noch nicht gekannte Virusarten hervorgerufen wird.

Auf Grund dieser Untersuchungen liegt es immerhin im Bereich der Möglichkeit, daß die Ergebnisse von Schweinburg und Koritschoner durch das Vorhandensein von ähnlichen neurotropen Virusarten beeinflußt worden sind, da die Versuche in den Jahren 1919—1923 angestellt wurden, einer Zeit, in der auch speziell in Wien die Encephalitis lethargica eine große Rolle spielte. Leider sind Uebertragungsversuche von den an Lähmung verstorbenen Kaninchen nicht gemacht worden, die eine Klärung dieser Frage hätten herbeiführen können.

Unter Bewertung aller dieser Versuchsergebnisse müssen wir zu dem Schluß kommen, daß bis jetzt noch nicht mit Sicherheit gesagt werden kann, welches das schädigende Agens ist. Jedenfalls spricht aber die Tatsache, daß es nur bei einer recht geringen Zahl von Geimpften, die alle mit dem gleichen Impfstoff unter den gleichen Bedingungen behandelt sind, zu Lähmungsfällen kommt, mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß neben der schädigenden Substanz auch eine gewisse individuelle Disposition eine Rolle spielt.

Soweit wir also von der Erklärung dieser Impfschäden entfernt sind, so viel steht fest, daß bei den Methoden, die eine größere Menge Nervensubstanz verwenden, die Zahl der Lähmungen größer ist, als bei den anderen, wie aus den Statistiken über das Vorkommen von Impfschäden bei der Pasteurschen Methode mit ihren Variationen im Gegensatz zu der Högyesschen Methode, die nur etwa den zehnten Teil der Nervensubstanz beansprucht, hervorgeht. Man muß deshalb im Hinblick auf die große Gefahr einer tödlich endenden Lyssa-Infektion, und zwar in jedem Fall, in dem auch nur der Verdacht einer Infektion vorliegt, die Impfung vornehmen, aber die Methode verwenden, die bei möglichst hoher immunisierender Fähigkeit die Zahl der Impfschädigungen auf ein Minimum herabdrückt. Auf Grund von statistischen Arbeiten scheint zurzeit die Högyes-Methode diesen Ansprüchen zu genügen.

Ueber die Komplementablenkungsreaktion bei der Tollwut.

[Aus dem Chemiko-Bakteriologischen Institut zu Orenburg.]

Von Prof. Dr. **L. Horowitz-Wlassowa.**

Alle Forscher, die die Tollwut studierten, kennen die Schwierigkeiten der Diagnose wohl, wenn es sich um atypische Fälle der Hundswut oder um Erkrankungen von mit verdächtigem Material infizierten Kaninchen handelt. Wir wissen ja, daß die Sektionsbefunde bei der Hundswut (Fremdkörper im Magen, Hyperämie des Marks, De-

generation der Speicheldrüsen usw.) ziemlich unsicher sind, und daß Negri-Körperchen nicht selten fehlen (nach Luzzani, Nicolas, Bohne, Lentz, Katz, Hart, Krajuschkin u. a. in 3—12 Proz.), bei tollwutkranken Kaninchen aber überhaupt niemals zur Beobachtung kommen; das biologische Verfahren, d. h. die subdurale Impfung des Kaninchens mit verdächtigem Mark, erfordert aber so viel Zeit, daß es für praktische Zwecke kaum in Betracht kommen kann. Es ist daher ohne weiteres klar, daß immunbiologische Reaktionen, die in verdächtigen Fällen als Fingerzeig dienen könnten, höchst erwünscht wären. — Wir haben daher das ziemlich reiche Material der Pasteur-Station unseres Instituts benutzt, um diese Frage näher zu erörtern.

Die Literatur derselben ist bekanntlich spärlich und enthält nur unbestimmte Angaben. Heller und Tomarkin konnten 1907 mittels Imunisierung von Kaninchen mit dem Virus fixe Serum gewinnen, das mit dem Virus bei der Anstellung der Komplementablenkungsreaktion Hämolyse hemmte, für Diagnosezwecke aber unzuverlässig war, da es mit dem normalen Kaninchenmark in derselben Weise reagierte. Friedberger hatte dagegen nur negative Resultate. Zell (zit. nach Kraus u. Uhlenhuth) berichtete über günstige Resultate mit Seris von mit Speicheldrüsen wutkranker Hunde immunisierten Kaninchen; ähnliche Beobachtungen wurden von Nedrigaïlow kurz mitgeteilt.

Zahlreiche Antigene, die wir in unseren Untersuchungen verwendeten, wurden aus verschiedenstem Material hergestellt, namentlich 1) aus dem Haupt- und Rückenmark der mit Virus fixe subdural geimpften Kaninchen (Nr. I, II, III, VII, VIII, IX, X, XX, XXI, XXVI, XXIX), 2) aus dem Hauptmark wutkranker Hunde (Nr. V, XI, XII, XIII, XV, XVI, XXVIII), 3) aus dem Hauptmark wutkranker Katzen (Nr. XXIV, XXV), 4) aus dem Hauptmark an Tollwut infolge des Wolfbisses gestorbener Menschen (Nr. XXVII), 5) aus den Speicheldrüsen tollwutkranker Hunde (Nr. VI, XVII, XVIII, XIX), 6) aus den Speicheldrüsen wutkranker Katzen (XXII, XXIII), 7) aus dem Hauptmark eines gesunden Hundes (Nr. XIV) und 8) aus dem Hauptmark eines gesunden Kaninchens (ANK).

Tabelle I gibt eine Zusammenfassung der Angaben über den Ursprung und die Herstellungsweise dieser Antigene: anfangs verrieben wir 1 Teil der Marksubstanz mit 4 Teilen physiolog. Kochsalzlösung und versetzten die durch Fließpapier filtrierte Flüssigkeit mit 0,5 Proz. Karbolsäure. Später aber, als wir uns überzeugt hatten, daß die auf diese Weise hergestellte Vakzine keine Immunität erzeugte (s. Tab. III) und ihre Antigenwirkung (in vitro) rasch einbüßte, fügten wir an Stelle der Karbolsäure 10—25 Proz. Glyzerin hinzu. In mehreren Fällen verwendeten wir als Antigene die alltäglich für antirabische Impfungen angefertigten Emulsionen, die aber wegen ihrer stark ausgeprägten komplementbindenden Wirkung verdünnt werden mußten. Extrakte aus den Speicheldrüsen (die sich nicht verreiben lassen) wurden mittels Mazeration der zerkleinerten Drüsen in physiolog. Kochsalzlösung hergestellt und die durch Gaze filtrierte Flüssigkeit mit Glyzerin versetzt.

Sämtliche Antigene wurden in der üblichen Dosis von 0,2 (bei einer Gesamtmenge des Gemisches von 2,5 ccm) verwendet. Bei der vorläufigen Prüfung der antikomplementären Wirkung erwies es sich, daß 10 darunter (namentlich die verdünnten Emulsionen, für antirabische

Tabelle I.

Nr. der Antigene	Ursprung der Antigene	Herstellungsweise	Daten d. Herstellung
I	Hauptmark des I. mit Virus fixe infizierten Kaninchens	Extrahierung der verriebenen Marksubstanz mit 4 Teilen NaCl-Lösung, Filtrat durch Papier, Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure	27. 11.
II	Hauptmark des III. mit Virus fixe infizierten Kaninchens	Dgl.	7. 12.
III	Hauptmark des VII. mit Virus fixe infizierten Kaninchens	„	3. 1.
V	Hauptmark des I. wutkranken Hundes	Extrahierung der verriebenen Marksubstanz mit 4 Teilen NaCl-Lösung, Filtrat durch Gaze, Zusatz von 20 Proz. Glyzerin	12. 1.
VI	Parotis des I. wutkranken Hundes	Dgl.	12. 1.
VII.	Hauptmark des X. infiz. Kaninchens	„	19. 1.
VIII	„ „ XII. „ „	„	29. 1
IX	Hauptmark des mit dem Hauptmark des wutkranken Hundes infizierten Kaninchens	„	29. 1.
X	Hauptmark des XVI. mit dem Virus fixe infizierten Kaninchens	Seit 11. 11. getrocknet, seit 13. 11. in Glyzerin aufbewahrt, 18. 11. für die Impfung emulgiert, die Emulsion 10mal verdünnt	18. 2.
XI	Hauptmark d. II. wutkranken Hundes	Wie Nr. V	23. 2.
XII	„ „ III. „ „	Wie Nr. X	23. 2.
XIII	„ „ IV: „ „	Dgl.	23. 2.
XIV	„ „ gesunden Hundes	„	23. 2.
XV	„ „ VI. wutkranken Hundes	„	19. 3.
XVI	„ „ VII. „ „	„	19. 3.
XVII	Parotis des VI. wutkranken Hundes	„	19. 3.
XVIII	„ „ VIII. „ „	„	19. 3.
XIX	„ „ VII. „ „	„	19. 3.
XX	Rückenmark des mit Virus fixe geimpften Kaninchens	Uebliche Herstellungsweise, wie für antirabische Schutzimpfung (1 ccm der Marksubstanz mit 10 ccm NaCl-Lösung), 10fache Verdünnung	31. 3.
XXI	Dgl.	Dgl.	2. 4.
XXII	Parotis der I. wutkranken Katze	Wie Nr. V, aber mit Zusatz von 10 Proz. Glyzerin	3. 4.
XXIII	„ „ II. „ „	Dgl.	3. 4.
XXIV	Haupt- und Rückenmark der I. wutkranken Katze	Extrahierung der zerriebenen Marksubstanz mit 20 Teilen der physiologischen NaCl-Lösung, Zusatz von 10 Proz. Glyzerin	3. 4.

Tabelle I (Fortsetzung).

Nr. der Antigene	Ursprung der Antigene	Herstellungsweise	Datend. Her-stellung
XXV	Haupt- und Rückenmark der II. wutkranken Katze	Wie Nr. XXIV	3. 4.
XXVI	Wie Nr. XX	Wie Nr. XX	7. 4.
XXVII	Haupt- und Rückenmark des an Wut gestorbenen Menschen	Wie Nr. XXIV, aber 10mal verdünnt	23. 5.
XXVIII	Hauptmark d. VII. wutkrank. Hundes	Dgl.	4. 6.
XXIX	Hauptmark des mit Menschenmark XXVII geimpften Kaninchens	„	11. 6.

Impfungen) in der Dosis von 0,2 keine eigenhemmende Wirkung ausübten, 13 waren imstande, 1 Komplementdosis von 3—2 und schließlich 1 Antigen (XVIII) sogar 3 Komplementdosen zu binden (letzteres Antigen war deswegen aus der Serie ausgeschaltet.

Das aus dem Hauptmark des gesunden Kaninchens hergestellte Antigen (ANK) pflegte nur 1 Komplementdosis zu binden.

Hier sei darauf hingewiesen, daß die Sera tollwutkranker, ebenso wie die intravenös immunisierter Kaninchen ihrerseits auch antikomplementär wirken. So binden die mit der üblichen Dosis 0,2 geprüften Sera der kranken Kaninchen III, V, VI, IX bis 3 Komplementdosen, XVI bis 4, I sogar 5; die Sera VIII und X haben eine weniger ausgeprägte antikomplementäre Wirkung, so daß Hämolyse mit 3 Komplementdosen eintritt, und ausnahmsweise bindet das Serum des Kaninchens XI (das mit Straßenvirus subdural infiziert worden ist und erst nach 18 Tagen zugrunde ging), ebenso wie Normalkaninchenserum 1 Komplementdosis. Desgleichen sind 2, 3 und zuweilen sogar 4 Komplementdosen nötig, um Hämolyse bei den Kaninchen zu bewirken. Die Ursache dieser Erscheinung, die selbstredend große Schwierigkeiten bei der Anstellung der Komplementablenkungsaktion bereitet, ist unklar; es liegt aber nahe ,daß die antikomplementäre Wirkung der obigen Sera dadurch bedingt ist, daß die im Blute kreisenden kleineren Mengen des Antigens und die sich bildenden Antikörper durch ihre Gegenwirkung (Präzipitation, lytische Vorgänge usw.) Aenderungen im kolloiden Zustande des Serums herbeiführen und dessen adsorbierende Kraft auf diese Weise steigern.

Jedenfalls kompliziert diese Tatsache die Methodik nicht unbeträchtlich, weil es unerläßlich ist, entweder doppelte Reihen von Röhrchen (ohne und mit Antigen) mit steigenden Komplementdosen anzustellen (wie es bei der Wassermannschen Reaktion und bei der Anwendung der Methodik von Kaup üblich ist), oder die komplementbindende Kraft des zu prüfenden Serums vorläufig auszutitrieren und erst dann für den Versuch geeignete Komplementdosen anzuwenden. Bindet z. B. das Antigen 1 Komplementdosis, das Serum 3, so werden im Versuch selbst 5 Komplementdosen und mehr angewendet.

Tabelle II.

Nr. der mit dem Virus fixe infizierten Kaninchen	Daten der Impfung	Daten des Todes	Daten der Reakt.-Anst.	Ausfall der Komplementablenkungsreaktion mit										
				ANR	WaR	BeR	BNR	AEchR	Rabiesantigenen I	II	III	V	VI	VII
III	28. 11.	7. 12.	2. 12.	.	.	.	.	.	++	.	.	.	.	.
III	28. 11.	7. 12.	5. 12.	++	—	—	—	—	++ mit 0,05 Serum ± 0,01 —	.	.	.	.	.
IV	7. 12.	12. 12.	12. 12.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.
VI	20. 12.	27. 12.	24. 12.	.	.	.	.	.	++	++	.	.	.	.
VII	28. 12.	3. 1.	31. 12.	.	.	.	.	.	—	++	.	.	.	.
VIII	3. 1.	10. 1.	7. 1.	.	.	.	.	.	.	—	—	.	.	.
VIII	3. 1.	10. 1.	10. 1.	.	.	.	.	.	.	.	+++	.	.	.
mit Glyzerinserummark infiz. IX	9. 1.	29. 1.	23. 1.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	++	.
X	11. 1.	19. 1.	16. 1.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	++	++
m. Straßenvirus infiz. XI	11. 1.	29. 1.	16. 1.	+++	.	.	.	.	.	++	+++	++	+++	+++

Tabelle II enthält eine Zusammenfassung unserer Angaben über die Komplementablenkungsreaktion mit den Seris der mit Virus fixe infizierten Kaninchen. Es ist daraus ersichtlich, daß die Reaktion schon am 4.—5. Tage der Erkrankung, d. h .wenn paralytische Erscheinungen zur Beobachtung kamen, mit verschiedenen Rabiesantigenen regelmäßig positiv ausfiel. Die Antikörper, die sich auf diese Weise nachweisen lassen, sind von zweierlei Art, die gegen die Marksubstanz selbst, wie aus den Versuchen mit dem ANK ersichtlich ist (Kaninchen III und XII) und gegen Tollwutvirus, wie aus den Versuchen mit dem aus den Speicheldrüsen wutkranker Hunde hergestellten Antigen hervorgeht (Kaninchen IX, X, XI). Die Prüfung des Serums eines der kranken Kaninchen mit verschiedenen anderen Antigenen, wie Antigen von Wassermann, von Besredka (in Tabelle BeR), von Boquet-Negre (ANK), von Weinberg, resp. die Echinokokkenflüssigkeit (AEchK) ergab negative Resultate.

Was nun den negativen Ausfall der Reaktion mit dem Serum des Kaninchens VII am 31. 12. und mit dem Antigen I anbetrifft, so glauben wir, ihn dadurch erklären zu können, daß dieses karbolisierte und seit 1 Monat aufbewahrte Antigen seine Wirkung unterdessen eingebüßt hatte. Es erweist sich also, daß trotz der Anhäufung von spezifischen Antikörpern im Blutstrome der mit dem Virus fixe geimpften Kaninchen, deren Serum für diagnostische Zwecke bei der Verwendung des Marks verdächtiger Hunde kaum brauchbar ist, da die Antikörper gegen die

Kaninchenmarksubstanz zu reagieren vermögen — wie es z. B. bei der Bildung der Abwehrfermente von **Abderhalden** der Fall ist, die bekanntlich für das Organ, nicht für die Tierart spezifisch sein sollen. Wird aber der Speicheldrüsenextrakt des verdächtigen Hundes als Antigen verwendet (siehe Kaninchen IX), so scheint der positive Ausfall der Reaktion beweisend zu sein.

Die II. Untersuchungsserie über die sich im Blute vom Kaninchen bildenden Antikörper, die intravenös mit karbolisierten Filtraten der Extrakte des Hauptmarks der mit Virus fixe geimpften Kaninchen immunisiert worden sind. werden in Tabelle III zusammengefaßt.

Tabelle III.

Angaben über die Komplementablenkungsreaktion mit dem Serum des Kaninchens, das mit karbolisierten Extrakten des Marks des mit dem Virus fixe geimpften Kaninchens immunisiert worden ist.

Daten der intravenösen Impfung	Natur und Menge des Impfmateriales	Daten der Reaktionsanstellung	Ausfall der Reaktion mit					
			ANK	Rabiesantigenen				
				II	III	V	VI	VII
3. 1.	1,0 des Antigens II	7. 1.	.	—	—	.	.	.
5. 1.	1,0 „ „ III	13. 1.	.	.	+++	+++	+++	.
8. 1.	1,0 „ „ III	14. 1.	+++	+++	+++	+++	.	.
12. 1.	1,0 „ „ III	16. 1.	+++	+++	+++	+++	.	.
17. 1.	1,0 „ „ III	23. 1.	++	.	.	++	++	++
26. 1.	1,0 „ „ I	.	.	.	.	.	.	.
6. 2.	1,0 „ „ VII	.	.	.	.	.	.	.
28. 2.	1,0 „ „ VIII	.	.	.	.	.	.	.
2. 3.	Wird subdural mit dem Virus fixe geimpft, 7. 3. Paralyse, 9. 3. Tod							
Serum des mit **Besredka**schem Antigen geimpften Kaninchens						—	—	—
2 Sera der Tbc.-Kranken mit BeR +++			.	.	.	—	—	—

Die Tabelle zeigt, daß die sich in diesem Versuche bildenden Antikörper auch doppelartig sind; das Serum kann also nur unter denselben Bedingungen verwendet werden, die oben bezüglich tollwutkranker Kaninchen besprochen sind.

Sehr beachtenswert ist die Tatsache, daß dieses Kaninchen, trotz der 2 Monate langen Immunisierung und der nachgewiesenen Antikörperbildung keine Immunität aufweist und nach der subduralen Impfung mit dem Virus fixe ebenso rasch wie das Kontrollkaninchen zugrunde ging. Da aber die intravenöse Einverleibung der glyzerinisierten Virus fixe-Emulsion sichere Immunität zu verleihen versuchte (siehe Tabelle IV), so muß dieser Unterschied gewiß auf die Herstellungsweise der beiden Vakzinen zurückgeführt werden (die individuelle Widerstandsfähigkeit der Tiere kommt hier kaum in Betracht, da die subdurale Infektion in der Praxis unserer **Pasteur**schen Station niemals versagte) — da aber die Filtration durch Papierfilter für filtrierbares Virus" a priori ohne Belang sein soll, so bleibt nur die ungünstige Wirkung, die der Zusatz der Karbolsäure bei Vakzine ausüben soll, übrig. Diese letztere Tatsache muß unseres Erachtens betont werden, da der Zusatz von 0,5—2 Proz. Karbolsäure in neuester Zeit von mehreren Forschern für die Konservierung der Virus fixe-Emulsionen empfohlen wird (**Fermi**, **Marras**, **Herrmann**, **Nikolaïewa**). Unsere Beobachtungen über die mangelnde immunisierende Wirkung

solcher Vakzinen, die dabei auch in Versuchen der Komplementablenkungsreaktion nach längerem Aufbewahren als Antigene, wie oben erwähnt, versagen und schließlich, wie Fermi selbst angibt, ihre Virulenz schon nach 10 Tagen einbüßen, sprechen aber unseres Erachtens nicht zugunsten dieser Methode.

Tabelle IV.

Ausfall der Komplementablenkungsreaktion mit dem Serum des intravenös immunisierten Kaninchens mit der frischen Virus fixe-Emulsion.

Daten der Impfungen	Menge der einverleibten Emulsion	Daten der Reaktionsanstellung	Ausfall der Komplementablenkungsreaktion mit											
			ANK	Rabiesantigenen										
				XV	XVI	XVII	XIX	XXI	XXII	XXIII	XXIV	XXV	XXVI	XXVII
16, 3.	0,25	31. 3.	.	++	.	+++		+	.	.	.	.	.	.
21. 3.	0,5	2. 4.	.	+	+	+++	+++	.	.	.	.	.	.	.
28. 3.	0,5	4. 4.	.	.	.	.	.	+++	+++	++	++	.	.	.
2. 4.	0,5	14. 4.	++	.	.	++	.	++	.	++	.	.	.	.
6. 4.	1,0	30. 5.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	++	.
.	.	17. 6.	++	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	++
9. 4.	Wird subdural mit dem Virus fixe geimpft (nach antianaphylaktischer, subkutaner und intravenöser Impfung 1 Std. vor der subduralen Infektion), bleibt während 3 Monate langer Beobachtungszeit völlig gesund, während das Kontrolltier nach 8 Tagen zugrunde geht.													
Normalkaninchenserum				.	—	.	—	.	.	.	—	.	.	.
Serum des mit Hammelerythrozyten immunisierten Kaninchens				.	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.

Tabelle IV enthält Angaben über die intravenöse Immunisation des Kaninchens mit der frischen, ohne Zusatz der Konservierungsmittel angefertigten Virus fixe-Emulsion, die für Schutzimpfungen alltäglich hergestellt wurde. Sie bestätigt die obigen Angaben über die spezifische Antikörperbildung und die doppelartige Natur der Antikörper. Es besteht aber zwischen diesen beiden Versuchen ein nicht unerheblicher Unterschied betreffs der erzeugten Immunität, während das erste Kaninchen, ebenso wie das Kontrolltier, zugrunde geht, verträgt das Kaninchen der Tabelle IV die letale subdurale Infektion mit dem Virus fixe ganz gut. Kontrollsera der normalen Kaninchen, ebenso wie die Sera der mit verschiedenen Antigenen (wie Hammelerythrozyten, das Besredkasche Antigen) immunisierten Kaninchen ergaben stets mit unseren Rabies-Antigenen negative Resultate.

Eine besondere Besprechung verdienen die in Tab. V zusammengefaßten Versuche mit 2 Kaninchen, die Extrakte von Speicheldrüsen wutkranker Hunde intravenös bekamen. Das erstere Kaninchen wurde mit dem Antigen VI immunisiert. Der Hund, dem die Speicheldrüsen zur Herstellung dieses Antigens entnommen wurden, hatte bestimmte klinische Symptome der Wut aufgewiesen und mehrere Personen gebissen. Zwar gelang es uns nicht, die Negrischen Körperchen in diesem Falle

nachzuweisen, doch erwies sich die subdurale Impfung des Kaninchens mit dem stark hyperämierten Hauptmark dieses Hundes als tödlich, das Tier (siehe Kaninchen XI auf Tabelle II) bekam Paralyse und ging nach 18 Tagen unter typischem Krankheitsbilde zugrunde. Die Speicheldrüsen des betreffenden Hundes wiesen bei der histologischen Untersuchung das Bild stark ausgeprägter körnig-fettiger Degeneration auf. Die 3 ersten intravenösen Impfungen wurden mit $^1/_2$ Std. bei 55° erwärmtem, die nachfolgenden mit frischem Antigen ausgeführt. Das Serum dieses Kaninchens bewirkt, wie aus Tab. V ersichtlich, schon 10 Tage nach der 1. Impfung Hämolysehemmung mit homologen Antigenen (VI, XVII), ebenso wie mit Mark wutkranker Kaninchen (VIII, X) und dem der wutkranken Hunde (XII, XIII, XV, XVI), während die Reaktion mit dem Mark des Normalkaninchens (ANK) und des gesunden Hundes (XIV) negativ ausfällt.

Tabelle V.

Ausfall der Komplementablenkungsreaktion mit Seris der mit glyzerinisierten Extrakten der Speicheldrüsen wutkranker Hunde (ARab VI und AKab XVII) immunisierten Kaninchen.

Daten der Impfungen	Menge des Impfmateriales	Daten der Reaktionsanstellung	Ausfall der Reaktion mit										
			ANK	Rabiesantigenen									
				VI	VIII	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII
31. 1.	0,5	10. 2.	—	++	++	+	.	.	—	.	.	.	.
2. 2.	0,75	18. 2.	—	.	.	++	.	.	.	.	.	.	.
6. 2.	1,0	23. 2.	—	++	.	.	+++	++	.	.	.	.	.
21. 2.	1,0	28. 2.	.	.	.	.	.	.	++	—	.	.	.
28. 2.	1,0	10. 3	.	.	.	.	++	++	++	—	.	.	.
.	.	19. 2.	.	.	.	.	.	.	.	.	++	+	++
20. 3.	Wird subdural mit dem Virus fixe infiziert: Fast momentaner Tod unter Erscheinungen anaphylaktischen Schoks (siehe Text)												

Daten der Impfungen	Menge des Impfmateriales	Daten der Reaktionsanstellung	Ausfall der Reaktion mit dem Serum des mit ARab XVII immunisierten Kaninchens mit Rabiesantigenen							
			ANK	XV	XVII	XIX	XXII	XXIV	XXVI	XXVII
30. 3.	0,5	7. 4.	.	++	++	.	.	++	++	.
2. 4.	0,5	7. 4.		.	++	.	+++	++	.	.
6. 4.	1,0	30. 4.	.	.	.	+	.	.	.	++

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei dem 2. Kaninchen, das mit demselben Impfmateriale vorbehandelt wurde und dessen Serum mit homologen Antigenen (XVII, XIX) positive Reaktion ergibt, ebenso wie mit Antigenen XXI und XXIV aus den Speicheldrüsen wutkranker Katzen (deren 1 in derselben Wohnung erkrankte, wo vor einigen Tagen ein Fall von Hundswut vorgekommen war), ferner mit Antigenen aus dem Mark der wutkranken Hunde (XXV, XXVIII), mit dem Virus fixe XXVI und schließlich mit dem Mark von einem Menschen, der infolge Wolfbiß an Rabies gestorben war und dessen Mark bei

subduraler Impfung den Tod des Kaninchens nach 18 Tagen unter paralytischen Erscheinungen herbeigeführt hat.

Bei Berücksichtigung dieser Angaben drängt sich die Schlußfolgerung auf, daß es sich hier in beiden Fällen um echte Tollwut-Antikörper handelt, da die Vakzine selbst keine Spur von Marksubstanz enthält, so daß die Reaktion mit dem Mark der kranken Tiere ausschließlich auf das Virus zurückgeführt werden muß. Der negative Ausfall der Reaktion mit dem Normalkaninchenmark und mit dem Mark des gesunden Hundes bestätigt diese Auffassung. Beiläufig sei noch darauf hingewiesen, daß wir es bei der Anwendung der aus den Speicheldrüsen hergestellten Antigene wieder mit 2 parallelen Systemen zu tun haben, so daß die betreffenden Sera aller Wahrscheinlichkeit nach auch mit Speicheldrüsenextrakten normaler Hunde positive Reaktion ergeben sollten. Die subdurale Impfung des 1. Kaninchens der Tab. V mit dem Virus fixe scheint einen neuen Beweis dafür zu liefern, daß das betreffende Kaninchen echte Tollwutantikörper in seinem Blutstrome enthält. Tatsächlich bewirkte diese Impfung, die 3 Wochen nach der letzten Einführung der Vakzine erfolgte, fast augenblicklich den Tod des Tieres unter heftigen Erscheinungen anaphylaktischen Schocks — eine Tatsache, die nur auf das Virus selbst, das in den Vakzinen ebenso wie im infizierenden Material vorhanden ist, nicht aber auf die begleitenden Stoffe zurückgeführt werden kann, die in beiden Fällen verschiedenartig sind. Die nähere Untersuchung dieses Falles scheint dessen anaphylaktische Natur zu bestätigen: so ließen sich bei der Obduktion keine örtlichen Verletzungen und keine pathologischen Veränderungen innerer Organe nachweisen. Das Blut ist dunkelrot, gerinnt sehr langsam, erst nach 2—3 Std. und ist ungewöhnlich arm an Komplement. Während das Normalkaninchenserum in der Dosis von 0,15—0,2 die Hämolyse zu bewirken pflegt, erweist sich das betreffende Serum sogar in der Dosis von 0,8 inaktiv; die Komplementablenkungsreaktion mit dem Rabies-Antigen V fällt negativ aus (Antikörperverbrauch?).

Der mit dem Blute dieses Kaninchens angestellte Versuch der passiven Anaphylaxie läßt sich in folgender Weise kurz fassen: Ein Meerschweinchen von 200 g bekommt intraperitoneal 1 ccm Blut und $^1/_2$ Std. später $^1/_2$ ccm der Virus fixe-Emulsion. Nach 5—10 Min. langer Aufregungsphase (Muskelzuckungen, Sprünge) bleibt das Tier stundenlang unbeweglich mit zugemachten Augen sitzen, ohne auf irgendwelche Eindrücke zu reagieren; am nächsten Morgen aber scheint es wieder normal zu sein. Das Kontrollmeerschweinchen, das nur $^1/_2$ ccm der Virus fixe-Emulsion intraperitoneal bekommt, verhält sich wie alle gesunden Meerschweinchen. Aus diesen Tatsachen folgt, daß es sich in diesem Falle wirklich um spezifische Tollwut-Anaphylaxie handelt. Fassen wir alle bei diesem Versuche festgestellten Tatsachen zusammen, so können wir daraus schließen, daß diese Versuchsanordnung in Fällen, wo Mark verdächtiger Hunde als Antigen verwendet wird, die Diagnose ermöglicht. Was nun die Vermutung anbetrifft, daß solche Sera mit irgendwelchen Hundeeiweißen gelegentlich reagieren können, so sind wir der Meinung, daß eine solche Fehlerquelle kaum zu befürchten ist. Tatsächlich beruht die ganze Organdiagnostiklehre" von Abderhalden auf der Tatsache, daß parenterale Einverleibung der Zerfallsprodukte eines Organs Abwehrferment

resp. Antikörperbildung gegen das betreffende Organ (gelegentlich auch anderer verwandten Tierarten), nicht aber gegen die anderen Organe desselben Organismus hervorruft. Unsere Beobachtung mit dem Hunde XIV (Tab. V) scheint diese Anschauung zu stützen. Um jeden Zweifel zu beseitigen, wäre aber empfehlenswert, auch über Sera der Kaninchen zu verfügen, die mit Speicheldrüsen anderer wutkranker Tierarten, z. B. Katzen, immunisiert worden sind. Der positive Ausfall der Komplementablenkungsreaktion bei der Verwendung solchen Serums und des Marks des verdächtigen Hundes würde jeden Zweifel ausschließen. Bestätigen aber fernere Versuche mit dem Mark gesunder Hunde unsere obige Auffassung, so kann natürlich auf diese experimenta crucis verzichtet werden.

Tabelle VI.

Ausfall der Komplementablenkungsreaktion mit den Seris der von wutkranken Tieren gebissenen und mit Pasteurschen Schutzimpfungen behandelten Personen.

Bezeichnung der Namen	Dauer der Schutzimpfung	Daten der Reaktionsanstellung	Ausfall der Reaktion mit									
			ANK	Rabiesantigenen								
				I	II	III	V	VI	VII	VIII	IX	X
Pr.	23. 12.–15. 1.	24. 12.	—	—	—	.	.	.	.	.	.	.
.	.	31. 12.	.	—	—	.	.	.	.	.	.	.
.	.	6. 1.	—	.	—	—	.	.	.	.	.	.
.	.	18. 2.	—	.	.	.	.	—	.	—	.	.
Kupr.	31. 12.–20. 1.	3. 12.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	6. 1.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.
.	.	15. 1.	—	.	—	—	—	.	.	.	.	.
Chak	7. 1.–28. 1.	12. 1.	—	.	.	.	.	—	.	—	.	.
Sit.	30. 12.–20. 1.	18. 2.	—	.	.	.	.	—	.	—	—	.
Seif.	29. 12.– 6. 1.	31. 12.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.
Rul	2. 1.–15. 1.	.	.	.	.	.	.	—	—	.	.	.
Ger	9. 1.–30. 1.	15. 1.	—	.	.	.	.	—	—	.	.	.
.	.	23. 1.	.	.	.	.	.	—	—	.	.	.
Geo	10. 1.–23. 1.	23. 1.	.	.	.	.	.	—	—	.	.	.
Fers.	30. 12.–20. 1.	23. 1.	.	.	.	.	.	—	—	.	.	.

Tabelle VI faßt unsere Angaben über die Prüfung mittels der Komplementablenkungsreaktion der Sera der von tollwutkranken Hunden gebissenen und in unserem Institut behandelten Personen. Diese Tabelle zeigt, daß es auffallenderweise nicht gelingt, Antikörper gegen das Virus wie auch gegen die Marksubstanz im Blute dieser Personen sogar 2 bis 4 Wochen nach der beendigten Schutzimpfungsserie nachzuweisen.

Wie läßt sich dieser merkwürdige Unterschied unter den obigen Angaben und dem Verhalten der immunisierten Menschen erklären? Es liegt der Gedanke nahe, daß dieser Unterschied in beiden Fällen von verschiedener Einverleibungsweise bedingt wird.. Tatsächlich konnten wir denn auch im Blute des Kaninchens, das 10mal Virus fixe-Emulsion subkutan bekommen hat, keine Antikörper nachweisen. Zur Zeit halten wir es für möglich, vorläufig folgende Hypothese anzunehmen. Wir wissen aus den Untersuchungen von Vestea, Za-

gari Nicolas, Scheffer, Roux, Högyes u. a., daß das Tollwutvirus eine besondere Affinität zur Nervensubstanz hat und im Organismus nicht durch die Blutbahn, sondern durch die Nervenfasern fortschreitet (es ist ja bekannt, daß dessen Nachweis im Blutkreise, wenn auch möglich, wie Herrmann u. a. es angegeben, zu den höchsten Seltenheiten gehört); man ist also anzunehmen berechtigt, daß die parenterale Einführung des Virus in die Blutbahn, die zur Förderung der Antikörperbildung nötig ist, bei dessen subkutanen Einverleibung ausbleiben kann, während sie bei der intravenösen Immunisierung nicht zu vermeiden ist und bei der subduralen Einführung auch das Virus teilweise durch zahlreiche lymphatische Wege (subarachnoïder Raum usw.) ins Blut gelangen soll.

Hier sei an Besredkas Anschauungen bezüglich der örtlichen Immunisierung der Haut gegen Anthrax erinnert, in dessen Versuchen die Antikörperbildung bekanntlich ausblieb, trotz erzielter Immunität.

Was nun das Ausbleiben der Antikörperbildung gegen die Marksubstanz anbetrifft, so ist a priori die Voraussetzung berechtigt, daß die subkutan eingeführte Virus fixe-Emulsion ebenso wie Talk, Karmin und andere grobe suspendierte Teilchen, an Ort und Stelle Leukozyten heranlocken und sofort phagozytiert werden, so daß deren parenterale Einverleibung ebenso wie die des Virus ausbleibt.

Wir müssen aber bemerken, daß es uns nicht gelungen ist, bei der subkutanen Einführung der mit der Virus fixe-Emulsion gefüllten kapillaren Röhrchen die Anhäufung der Phagozyten im Röhrchen selbst, das 1—2 Std. im subkutanen Gewebe lag, direkt zu beobachten. Nach 10—12 Std. war das Röhrchen leer.

Es ist kaum nötig, zu betonen, daß das Ausbleiben der Antikörperbildung unter diesen Verhältnissen nicht im mindesten die Bewertung der Schutzwirkung der antirabischen Impfungen beeinflussen soll. Wir wissen ja ganz bestimmt, daß unsere früheren Vorstellungen über Antikörper als Kriterien der Immunität sich nicht bewährt haben in dem Sinne, daß das Ausbleiben der Antikörper den Eintritt des Immunitätszustandes nicht ausschließt und, umgekehrt, deren Vorhandensein, sogar in großen Mengen, die Infektion nicht immer hindert. (Wir konnten dies z. B. in unseren eigenen Untersuchungen über die experimentelle Tuberkulose feststellen.)

Es besteht aber bei der Berücksichtigung dieser Angaben der praktische Nachteil, daß wir zur Zeit keine Methode besitzen, um die Wirkung der antirabischen Schutzimpfungen serologisch zu verfolgen.

Zusammenfassung.

1) Im Blut der subdural mit Virus fixe infizierten, ebenso wie der intravenös mit dem Virus fixe immunisierten Kaninchen lassen sich Antikörper nachweisen, die bei der Komplementablenkungsreaktion mit dem Tollwutvirus (Virus fixe wie Straßenvirus) und mit der Kaninchenmarksubstanz die Hämolyse hemmen. — 2) Die Antikörper lassen sich am 4.—5. Tage bei wutkranken, nach 7—10 Tagen bei intravenös immunisierten Kaninchen nachweisen. — 3) Diese Antikörper sind spezifisch, d. h. sie reagieren nicht mit verschiedenen fremden Antigenen, wie Lues-Antigen von Wassermann, Tuberkulose-Antigene von Bes-

redka, Boquet-Negri, die Echinokokkenflüssigkeit und umgekehrt, die von uns hergestellten zahlreichen Tollwut-Antigene reagieren nicht mit den Normalkaninchenseris und mit den Seris von Kaninchen, die mit fremden Antigenen (wie Hammelbluterythrozyten, Besredkasches-Antigen) immunisiert sind. — 4) Die Sera der mit Speicheldrüsen wutkranker Hunde intravenös immunisierten Kaninchen weisen Antikörper gegen das Tollwutvirus, nicht aber gegen die Marksubstanz auf. — 5) Im Blutserum der mit antirabischen Schutzimpfungen behandelten Personen gelingt es nicht, Antikörper gegen das Tollwutvirus, ebenso wie gegen die Normalkaninchenmarksubstanz nachzuweisen. — 6) Für diagnostische Zwecke, wenn das Mark verdächtiger Tiere zur Verfügung steht, lassen sich Sera der Kaninchen verwenden, die mit Speicheldrüsen wutkranker Hunde immunisiert worden sind: umgekehrt erweisen sich wenn mit Antigenen aus den Speicheldrüsen verdächtiger Tiere gearbeitet wird, Sera von Kaninchen, die subdural infiziert oder intravenös mit Virus fixe immunisiert worden sind, als brauchbar. — 7) Die karbolisierte antirabische Vakzine scheint für die Immunisierung ebenso wie für die Komplementablenkungsreaktion weit weniger zuverlässig zu sein, als frisch hergestellte oder glyzerinisierte Virus fixe-Emulsion. Demnach ist für die Konservierung der Antigene der Glyzerinzusatz zu bevorzugen.

Kritische Prüfung der bakteriologischen Merkmale des Bact. pyosepticum viscosum equi.

[Aus dem Impfstoffwerk der Deutschen Celluloid-Fabrik, Eilenburg. (Leiter: Dr. O. Zeh).]

Von Dr. **V. Goerttler.**

Mit 8 Abbildungen im Text.

Das in den letzten Jahren besonders als Erreger von Fohlenlähme und Septikämie bei Pferden von den verschiedensten Autoren beschriebene Bacterium pyosepticum viscosum equi erscheint in kultureller Hinsicht durch seine Schleimbildung so gut charakterisiert, daß die diagnostischen Schwierigkeiten bei der Isolierung verhältnismäßig gering zu sein scheinen. Bei Durchsicht der Literatur fällt aber auf, wie abweichend voneinander die kulturellen Merkmale der von verschiedenen Seiten isolierten Viscosum-Stämme angegeben werden.

Mehrere Möglichkeiten könnten diese Widersprüche erklären: 1. Es gibt tatsächlich weitgehende Stammesverschiedenheiten bei dem

in Frage stehenden Bakterium. — 2. Die Variabilität des Bact. pyos. visc. equi ist sehr groß. Die Verschiedenartigkeit der einzelnen Nährböden könnte dann eine ausschlaggebende Rolle spielen. — 3. Es hat sich nicht in allen beschriebenen Fällen um echte Viscosum-Stämme gehandelt.

Es erschien mir daher zweckmäßig, eine größere Anzahl von Pyosepticum-Stämmen einheitlich einer biologischen Prüfung zu unterziehen, um so zur Klärung dieser Fragen beizutragen.

1. Morphologie.

Uebereinstimmend wird von allen Autoren, mit Ausnahme von Russeff, der Pleomorphismus des Bact. pyos. visc. equi betont. Nach De Blieck und Baudet, die als erste Pyosepticum-Infektionen feststellten, ist das Bakterium etwa 1—3 μ lang und 0,5 μ breit, gramnegativ, polymorph, unbeweglich und sporenlos.

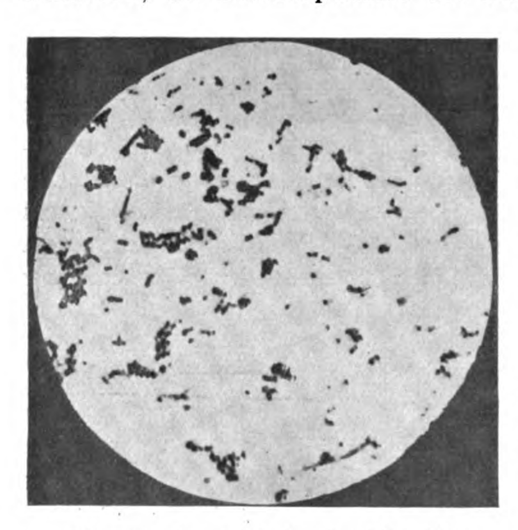


Fig. 1. Ausstrich aus Bouillonkultur. Viele „Kokkobazillen“, daneben vereinzelt kürzere und längere Stäbchen, deren Stärke jedoch nicht oder nur wenig von der der kokkenförmigen Bakterien abweicht.

(Die Aufnahmen wurden mit der sehr einfach zu handhabenden Leitz Mikro-Aufsatz-Kamera „Micca“ hergestellt. Die Vergrößerung beträgt bei allen Aufnahmen etwa 1:1000 (Micca-Kamera-Okular und $^1/_{12}$ Oelimmersion).)

Lütje beschreibt den Bazillus als coliform, 1,5 μ lang und 0,8—1,2 μ breit, pleomorpher als den Coli-Bazillus, z. T. kokkenförmig, z. T. vibrionenartig gekrümmt, kapsellos, doch in eine schleimige Grundsubstanz eingehüllt. Aehnlich wird das Bact. pyos. von den meisten anderen Autoren beschrieben (Adsersen, Clarenburg, Eickmann, Iwanoff, Koch, Kowatsch, Langhoff, Laudien, Magnusson, Miessner, Otto, v. Sande, Reinhardt u. a.).

Sachweh fand bei Blutnährboden „abenteuerlichste“ Formen, Reinhardt sah manchmal unverzweigte Scheinfäden von 2—5 Gliedern, ebenso Clarenburg. Lediglich Russeff betont die morphologische Konstanz und Einheit des Bact. pyosept., obgleich auch dieser Autor neben Kokkenformen häufig größere Stäbchen fand. Es geht aus der Arbeit von Russeff nicht hervor, inwieweit er diese Befunde als charakteristisch für das in Frage stehende Bakterium ansieht.

Am gleichmäßigsten imponiert nach meinen Untersuchungen ein Ausstrich aus Bouillonkultur (s. Fig. 1). Im allgemeinen sind die Pyosepticum-Bazillen etwas kleiner und kokkenförmiger als Coli-Bazillen. In vielen Gesichtsfeldern findet man nur diese kleinen zarten Stäbchen, oft von ovoider Form und bipolarer Färbung. Die Aehn-

lichkeit mit dem Ausstrich einer Bipolarenkultur ist mitunter ganz auffällig. Neben diesen kleinen Bazillen sieht man jedoch vereinzelt lange, mehr oder weniger dicke, plumpe Stäbchen, bei denen bisweilen deutlich eine Schleimhülle zu erkennen ist. Diese Stäbchen lassen den Verdacht auf Verunreinigung der Kultur aufkommen. Das ist jedoch nicht der Fall. Bei Ueberimpfung auf die Blauplatte, auf der Verunreinigungen am besten zu erkennen sind, und gegebenenfalls bei Anlage einer bunten Reihe zeigt sich die Reinheit der Kultur. Solche durch ihre Größe und Dicke hervorstechenden Stäbchen konnte ich in wechselnder Menge bei jedem meiner 20 Stämme nachweisen.

In Agarabstrichen erscheinen die Bakterien nicht so gleichmäßig wie in Bouillon. Der Polymorphismus tritt mehr hervor. Neben ganz kleinen kokkenartigen Gebilden zeigen sich mehr oder weniger lange Stäbchen, außerdem Scheinfäden und Ketten verschiedener Größe und Stärke. Es überwiegen aber auch hier durchaus die kleinen coli-ähnlichen Stäbchen (siehe Fig. 2). Die Bildung der beschriebenen abweichenden Formen ist nicht bei jedem Stamm gleich stark ausgeprägt (die Stämme 19, 24, 26, 31, zeigten sie in starkem Maße), doch ist sie bei jedem Stamme vorhanden. Diese Formen treten auch nicht nur bei einzelnen Kolonien auf (Mutation), sondern nach meinen Untersuchungen finden sie sich bei allen Kolonien. Ich habe eine sehr große Anzahl von Einzelkolonien verschiedener Stämme stets mit dem gleichen Resultat untersucht.

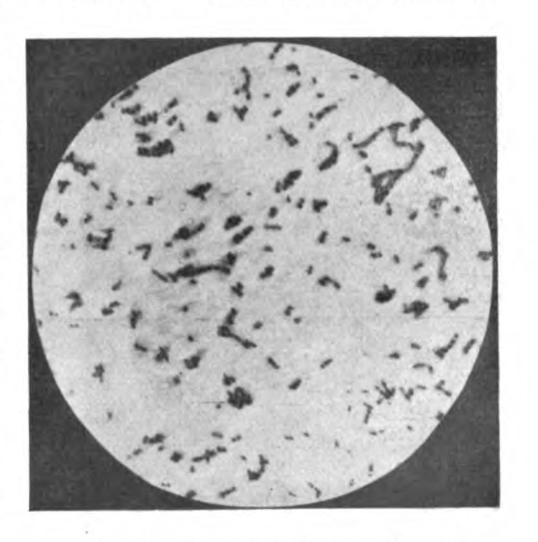


Fig. 2. Ausstrich aus Agarkultur. Kokken und Stäbchen verschiedener Größe und Stärke. Zu beachten ist das große Stäbchen unterhalb der Bildmitte.

Das Alter des Stammes scheint bezüglich der Stäbchenbildung ganz ohne Einfluß zu sein. Ich fand sie sowohl bei dem über 2 Jahre alten Stamm Nr. 14, wie bei den frisch isolierten Stämmen Nr. 30 und 35. Lediglich in älteren Kulturen sind sie häufiger zu finden, als in frischen, außerdem sieht man bei jenen häufig die von Russeff beschriebenen, sich nur schlecht färbenden „Schatten".

Da sich diese Stäbchen auf allen gebräuchlichen Nährböden: Serum- und Zuckerbouillon, Lackmusmolke, Milch, Serum-, Endo-, Conradi-Drigalski-Agar u. s. f. fanden, möchte ich diese Stäbchen verschiedener Größe und Stärke, die sich deutlich von der bei weitem überwiegenden Mehrzahl der kleinen „Kokkobazillen" abheben, als charakteristisch für das Bact. pyosepti viscosum equi ansehen.

Nach meinem Dafürhalten muß es allerdings, sofern es sich nur um gramnegative Bakterien handelt, beinah als ausgeschlossen gelten, die Reinheit einer Pyosepticum-Kultur lediglich auf Grund des mikro-

skopischen Befundes beurteilen zu können. Eine solche Entscheidung kann mit Sicherheit nur durch sorgsame kulturelle Prüfung erfolgen.

Vermittels einer einfachen Methode können die zwischen den Stäbchen und Kokken bestehenden Größenunterschiede anschaulich zur Darstellung gebracht werden. Ich ging von der Annahme aus, daß die größeren Stäbchen auch schwerer sein müssen als die kleineren Kokkobazillen. Durch fraktioniertes Zentrifugieren mußte es infolgedessen gelingen, die extremsten Vertreter dieser beiden Arten voneinander zu trennen. Das gelingt in der Tat bis zu einem gewissen Grade[1]).

Um den Schleim zu entfernen, muß man die Bouillon oder die Agarabschwemmung mehrmals mit Kochsalzlösung auswaschen (3—4mal je 20—30 Min. scharf zentrifugieren). Der Bakterienverlust ist dabei ziemlich erheblich, weil die Bindung zwischen Schleim und Bakterien sehr innig ist. Erst nachdem die Bakteriensuspension gründlich vom Schleim befreit ist, zentrifugiert man sie fraktioniert. Nach 3—5 mi-

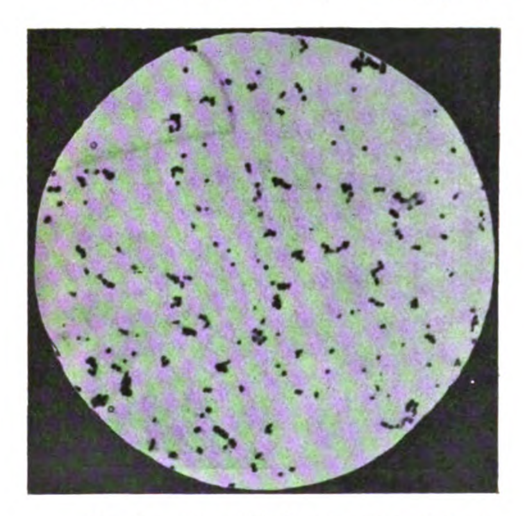


Fig. 3. Ausstrich aus dem 3. Centrifugat einer durch Alkoholausfällung entschleimten Agarabschwemmung nach fraktioniertem Centrifugieren. Ausschließlich Kokken.

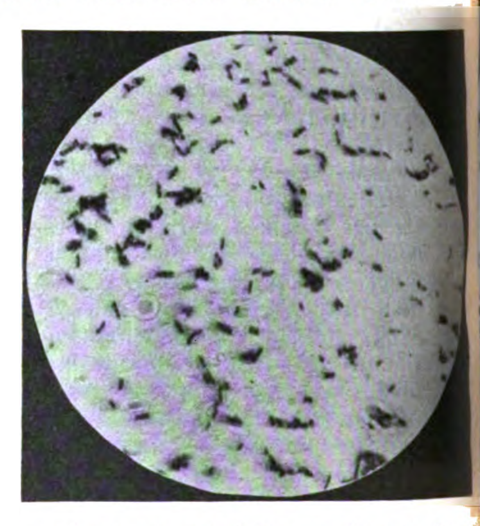


Fig. 4. Ausstrich aus dem 1. Centrifugat der gleichen Abschwemmung. Fast nur Stäbchen.

nutenlangem Zentrifugieren finden sich in dem Zentrifugat vorwiegend Stäbchen mit nur wenigen, wahrscheinlich infolge Verschleimung an ersteren haften gebliebenen Kokkenformen. Das mikroskopische Bild hat keinerlei Aehnlichkeit mit einem Viscosum-Ausstrich (s. Fig. 4). Es gelingt jedoch ohne weiteres, aus diesem Zentrifugat typische Viscosum-Bazillen mit Stäbchen und Kokkenformen in Reinkultur zu züchten. Ohne das Zentrifugat schleudert man nochmals 15—30 Min. aus. Die obenstehende Flüssigkeit ist noch stark getrübt, das Zentrifugat reichlich: hierin finden sich Vertreter beider Typen ohne Ueberwiegen des einen oder anderen. Nun wird nochmals, wieder ohne das Zentri-

1) Mit der im folgenden beschriebenen Methode wurden auch Versuche zur Trennung verschiedener Bakterienarten vorgenommen. Hierüber wird seinerzeit an anderer Stelle berichtet.

fugat, ca. 20—30 Min. zentrifugiert. Der spärliche Bodensatz besteht fast nur aus kokkenförmigen Bakterien (s. Fig. 3). Auch hieraus können Viscosum-Kolonien in Reinkultur gezüchtet werden.

Wenn man lediglich zur morphologischen Untersuchung und nicht zur kulturellen Prüfung des Zentrifugates eine Bakteriensuspension des Bact. pyoc. visc. equi fraktioniert zentrifugieren will, dann gelingt dies sehr viel eleganter und mit noch besserem Erfolg nach vorheriger Entschleimung mit der von mir an anderer Stelle angegebenen Alkoholausfällung (1:3) (11). Nach dieser Entschleimung erhält man außergewöhnlich schöne Bilder ohne irgendwelche Niederschläge. Das alkoholgefällte Zentrifugat wird mit Kochsalzlösung aufgenommen und ganz kurz, vielleicht 30 Sek. bei 3000 Touren geschleudert. Im Bodensatz haben sich nun alle Schmutz- und Staubteilchen, Agarstückchen, Watteflöckchen u.s.f. niedergeschlagen, dagegen sind noch kaum Bakterien

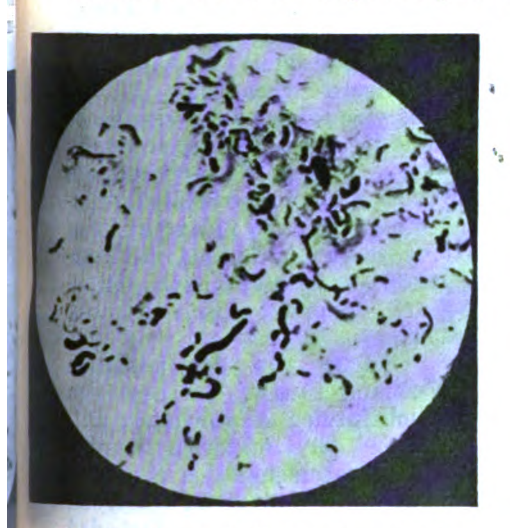


Fig. 5. Ausstrich aus der 1. Generation einer bei 19° C gehaltenen Kultur.

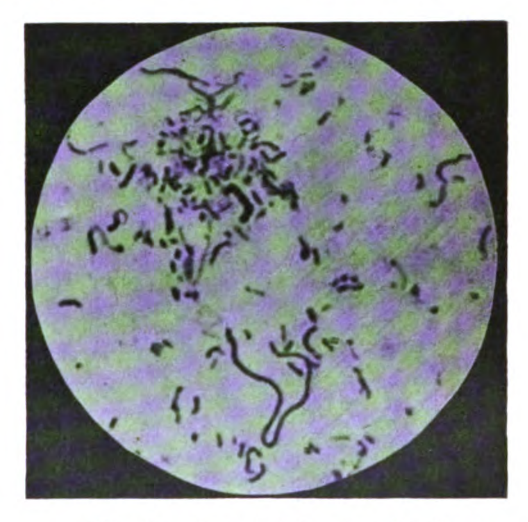


Fig. 6. Ausstrich aus 2. Generation einer bei 19° C gehaltenen Kultur. Involutionsformen.

zu Boden gesunken. Die obenstehende Flüssigkeit wird nun, wie eben beschrieben, weiter behandelt, nur empfiehlt es sich, das 1. Mal recht kurz zu zentrifugieren, da durch die Entschleimung das spezifische Gewicht der Suspensionsflüssigkeit leichter geworden ist und die Bakterien schneller niedersinken.

Geeignete Variationen der Lebensbedingungen können den Polymorphismus des Bact. pyoc. visc. equi erheblich steigern.

Kulturen aller 20 Stämme wurden, ursprünglich aus anderen Gründen, bei Temperaturen von 18—20 und von 46—48° C gehalten, also dicht oberhalb des Temperaturminimums und dicht unterhalb des Temperaturmaximums. Es ergaben sich bei allen Stämmen, in wechselndem Umfange allerdings, Wuchsformen, die man durchaus als „abenteuerlich" bezeichnen muß. Möglicherweise hat Sachweh schon ähnliche Bilder beobachtet. Bezüglich der Färbbarkeit finden sich alle Abstufungen von gut gefärbten Bakterien bis zu kaum wahrnehmbaren

Schatten. Fäden, Stäbchen und Kokken verschiedener Größe und Stärke wechseln mit Vibrionen-, Spirillen-, Quell- und Keulenformen, Kreisen und Ringen ab (s. Fig. 5—7). Häufig werden schlecht gefärbte schlauchartige Gebilde mit kolbenförmigen, stark tingierten Enden angetroffen. Zuweilen tragen die Bakterien auch an einem Pol eine dicke Kugel. Oefters sieht man spermatozoenähnliche Bildungen. Vom Kokkus bis zum Protozoon scheinen alle morphologischen Formen vertreten zu sein. Dem morphologischen Bilde nach zu urteilen machen solche Präparate keineswegs den Eindruck von Ausstrichen einer Reinkultur (Fig. 5—7).

Die Bildung anormaler Bakterienformen, sogenannter „Involutionsformen", stellte zuerst Gamaleia und weiterhin Hankin und Leumann fest. Die Beobachtungen dieser Autoren wurden in der Folge mehrfach bestätigt (Eisenberg, v. Eisler, Hammerl, Hata, Hinterberger u. Reitmann, Maassen, Matzushita, Sabella u. a.). Die Ursachen solcher Bildungen sind, trotz vielfacher Erklärungsversuche, noch dunkel. Anormale osmotische Verhältnisse und spezifische chemische Wachstumsreize spielen dabei eine große Rolle (Maassen, Gotschlich), ebenso ist der Wassergehalt des Nährbodens von erheblicher Bedeutung (Hinterberger und Reitmann), während die Temperaturverhältnisse nach Hammerl weniger in Betracht kommen.

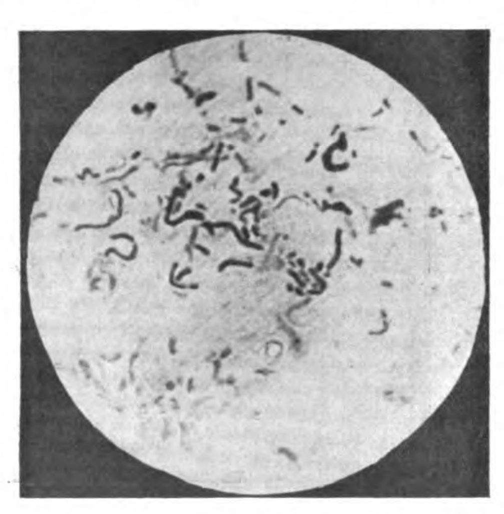


Fig. 7. Ausstrich aus 1. Generation einer bei 46° C gehaltenen Kultur. Involutionsformen.

Solche von der normalen Wuchsform bzw. den normalen Wuchsformen abweichende Bildungen der Bakterien wurden früher unterschiedslos als degenerativ aufgefaßt (Gotschlich). Erst Maassen stellte fest, daß diese Veränderungen in ihrer biologischen Bedeutung von verschiedener Wertigkeit sein können, da einige dieser Formen auf der Höhe der Entwicklung und ohne jede Einbuße vitaler Energie entstehen (ebenso Hammerl und v. Eisler), ja, es muß sogar Varietäten geben, die auch auf dem besten Agar in offenbaren Involutionsformen wachsen (Kruse u. Pansini). Für das Ergebnis solcher, zwar außerhalb des gewohnten regelmäßigen Formenkreises verlaufenden, aber noch keineswegs degenerativen Vorgänge, schlug Maassen den Ausdruck „teratologische Wuchsformen" vor, während rein degenerative Mißbildungen absterbender Kulturen weiterhin als „Involutionsformen" zu gelten haben.

Zur Prüfung der Frage, ob es sich bei den von mir beobachteten morphologischen Abweichungen des Bact. pyosepticum um „teratologische Wuchsformen" oder um „Involutionsformen" handelte, züchtete ich unter anderem meine Stämme auf 2—4proz. Kochsalzagar und in ebensolcher Kochsalzbouillon. Diese Kochsalznährböden sind von den

meisten Autoren zur Erzielung von teratologischen Wuchsformen angewandt worden. Das Ergebnis im vorliegenden Falle war ziemlich eindeutig: die teratologischen Wuchsformen auf Kochsalzagar sind von den degenerativen Involutionsformen bei Züchtung unter ungünstigen Temperaturbedingungen zu unterscheiden: Erstere sind sehr viel größer und gequollener, sie haben durchweg fast die Größe von Milzbrandbazillen, ihr ganzer Typ ist sehr viel einheitlicher: lange Fäden und Kokkenformen finden sich fast gar nicht, nur Stäbchen verschiedener Größe aber gleicher Stärke unregelmäßig aneinander gelagert. Die Bakterien färben sich fast alle gleich gut, „Schatten" sind nur selten zu finden (s. Fig. 8).

Es entstehen also auf Kochsalznährböden zwar anormale Formen, die jedoch keine deutlichen Merkmale der Degeneration aufweisen. Als solche sind aber die Abweichungen bei den Zimmertemperaturkulturen vorwiegend zu werten, die verschieden gute Färbbarkeit in erster Linie, weiterhin ist, von den grotesken Formen ganz abgesehen, die Teilungsenergie bei bestehendem oder doch minder geschädigtem Wachstum vielfach geschwunden, so daß lange Fäden entstehen (siehe Fig. 6). Umgekehrt ist aber auch mitunter bei erhaltener Teilungsfähigkeit das Wachstum vermindert, was zur Bildung der unregelmäßigen streptokokkenförmigen Gebilde führt (Gotschlich) (siehe Fig. 5). Oefters kann man in einem fortlaufenden Verband beide Vorgänge sehr schön nebeneinander verfolgen.



Fig. 8. Ausstrich aus 1. Generation einer Kultur auf 3 Proz. Kochsalzagar. Die dicken plumpen Stäbchen sind in Schleimmassen eingebettet. Links oben ein längerer gewundener Faden. In den scharf umgrenzten Hohlräumen haben anscheinend Bakterien gelegen.

Die morphologische Prüfung indes gibt nur einen Eindruck. Sichere Schlüsse lassen sich nur aus der kulturellen Untersuehung auf die Lebensfähigkeit eines in Degeneration befindlichen Bakteriums ziehen (Gotschlich, Maassen). Unsere Annahme erwies sich als berechtigt: Die Kochsalzkulturen ließen sich beliebig lange weiterzüchten, wohingegen die Zimertemperatur- bzw. 46°-Kulturen allenfalls noch in der 4. Generation, nie über diese hinaus, angingen.

Alle für die Entstehung der teratologischen Wuchsformen herangezogenen Erklärungsmöglichkeiten treffen für die Bildung der degenerativen Bildungen beim Bact. pyos. visc. nicht zu, denn es finden hier ja durchaus normale in keiner Weise chemisch veränderte Nährböden Verwendung und lediglich durch Züchtung dicht an der Grenze des Temperaturminimums bzw. -Maximums entstehen die Involutionsformen. Es liegt nahe, die ungünstigen Wuchsbedingungen als Ursache anzu-

sehen, aber auch diese Annahme erscheint nicht ohne weiteres als berechtigt. Denn durch chemische Aenderungen der Nährböden waren die Kummerformen nicht gleichartig hervorzurufen. Es fanden Saponinagar (Sabella), Blutagar (Sachweh), Kartoffelagar, eiweißfreier Nährboden sowie eine ganze Reihe von Anilinfarbstoffnährböden Verwendung (Gentianaviolett, Methylenblau, Malachitgrün, Fuchsin, Bismarckbraun in verschiedenen Konzentrationen). Teilweise blieb das Wachstum überhaupt aus, aber auch bei kümmerlicher Entwicklung der Kulturen traten die oben beschriebenen morphologischen Veränderungen nicht immer und nie in dem Umfange auf, wie es bei anormalen Temperaturen der Fall war.

Sinn und tiefere Ursache der Bildung von Involutionsformen bleiben dunkel. Imponderabilien spielen eine große Rolle, denn häufig treten nur bei einigen Stämmen einer unter ganz gleichen äußeren Bedingungen gehaltenen Kulturreihe die Degenerationsformen in voller Prägnanz auf, ohne daß diese Stämme besonders dafür prädestiniert erscheinen, denn in einer anderen Kulturreihe können wieder andere Stämme in dieser Hinsicht an erster Stelle stehen. Möglicherweise ist es auf die gelegentliche Bildung von Involutionsformen zurückzuführen, daß Viscosum-Infektionen nicht bakteriologisch diagnostiziert wurden, da die Kultur auf Grund des mikroskopischen Befundes als verunreinigt angesprochen wurde.

Diese Verhältnisse sind deshalb so ausführlich beschrieben worden, weil sie zeigen, wie sehr das charakteristische Merkmal, die morphologische Divergenz, des Bact. pyosepticum viscosum in das Groteske gesteigert werden kann.

2. Kultur.

Bezüglich der Schleimbildung des Bact. pyosepticum gehen die Angaben der einzelnen Autoren etwas auseinander. Nach De Blieck und Baudet zeigt sich im allgemeinen die Schleimbildung erst nach öfterem Umzüchten auf Agar. Nach Miessner dagegen verliert sich die fadenziehende, schleimige Beschaffenheit der Stämme nach einigem Umzüchten und bleibt nur selten bestehen, auch Clarenburg teilt mit, daß der schleimige Charakter im Verlauf einiger Subkulturen an Intensität einbüßt und gelegentlich ganz verschwindet. Lütje beobachtete sowohl schleimige wie schleimlose Stämme. Die schleimlosen Stämme sollen diese Eigenschaft erst erworben haben. Beller (zit. nach Russeff) glaubt, daß mit dem Verlust der Schleimbildung die Schwierigkeit der Züchtung behoben sei. Hierauf wird im Laufe der Arbeit noch eingegangen. Nach Sachweh verloren die Kolonien auf Serum-Agar die Fähigkeit des Einwachsens, von Reinhard, Miessner, Lütje, Adsersen wird das Einwachsen in den Agar ebenfalls erwähnt.

Alle 20 von mir geprüften Stämme (Verzeichnis siehe am Schlusse

der Arbeit)[1]) wiesen das Merkmal der Schleimbildung auf und wuchsen in den Agar ein, allerdings bestanden sowohl zwischen den einzelnen Stämmen, wie auch den benützten Nährböden Unterschiede in der Stärke der Schleimproduktion, zwischen dieser und dem Alter der Stämme dagegen waren keinerlei Zusammenhänge festzustellen. Die Stämme 14 und 17 sind über $2^1/_2$ Jahre alt und trotzdem noch schleimig. Ich konnte die Beobachtungen der oben zitierten Autoren, nach denen die Schleimbildung des Bact. pyosepticum viscosum equi im Laufe der Weiterzüchtung abnimmt, also nicht bestätigen.

Stark schleimig sind frische Bouillonkulturen (Adsersen, Clarenburg, Iwanoff, Lütje, Miessner, Reinhardt). Durch Zusatz von Zucker — gleichgültig, ob Milch- oder Traubenzucker — wird die Schleimbildung erheblich vermehrt. Teilweise machen die Kulturen geradezu einen fast gallertigen Eindruck (Iwanoff). In den Bouillonkulturen ist stets ein zusammenhängender, nicht leicht aufzuwirbelnder Zopf vorhanden, der sich bei längerem Stehen in der Kuppe des Reagenzglases absetzt, dieser Zopf ist stets in ausgesprochenem Maße, die obenstehende klare Bouillon mehr oder weniger, schleimig. In älteren Bouillonkulturen ist die schleimige Beschaffenheit der Bouillon oft erheblich vermindert.

Die Schleimbildung tritt weiterhin auf in Milch, Lackmusmolke, auf Conradi-Drigalski-, Blut- und gewöhnlichem Agar sowie auf Kartoffeln.

Ueber die Art des bakteriellen Schleimes ist in der Literatur nur sehr wenig berichtet. Die meisten Untersuchungen beziehen sich auf technisch verwendbare Bakterien (Lafar). Beim Bact. pyosept. equi scheint es sich keinesfalls nur um Abbauprodukte oder um chemische Umwandlung des im Nährboden vorhandenen Zuckers zu handeln, denn die Verbindung zwischen Bakterien und Schleim ist sehr innig, sondern allem Anschein nach entsteht der Schleim vorwiegend durch Verquellen der Membranen (Gotschlich). In Kochsalzbouillon gezüchtete Pyosepticum-Bakterien verschleimen zwar die Bouillon an sich nur mäßig, dagegen ist die Menge des an den Bakterien haftenden Schleimes so groß, daß derselbe auch durch Alkoholfällung mit nachfolgendem Zentrifugieren nicht restloss entfernt werden kann. Bei mikroskopischer Prüfung liegen die Bakterien in einem sich sehr gut färbenden Substrat, eben dem Schleim, förmlich eingebettet (siehe Fig. 8).

Durch Zentrifugieren kann man den Schleim nicht völlig von den Bakterien trennen. Nach $^1/_2$stünd. Zentrifugieren einer Bouillonkultur oder Agarabschwemmung mit 3000 Touren ist die obenstehende schleimige Flüssigkeit noch stark getrübt. Der Bodensatz ist stark schleimig und nach dem Aufnehmen desselben mit NaCl-Lösung wird auch diese schleimig. Dieser Vorgang wiederholt sich mehrmals. Immer von Neuem sondern die Bakterien Schleim ab. Auch durch Trocknen läßt sich die schleimige Konsistenz nicht entfernen. 14 Tage lang bei 37° C ge-

---

1) Für die liebenswürdige Ueberlassung von Stämmen spreche ich den Herren Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. Hobstetter, Jena; Direktor Dr. Lourens, Rotterdam; Direktor Dr. Lütje, Stade; Direktor Dr. Schumann, Breslau; sowie Direktor Dr. Werner, Graz, meinen ergebensten Dank aus.

haltene Agarabschwemmungen, die äußerlich fast trocken erschienen, lösten sich stark schleimig in Kochsalzlösung, die in der zur Abschwemmung verwandten Menge zugesetzt wurde.

Alle Versuche, die Schleimproduktion des Bact. pyos. viscos. equi experimentell weitergehend zu beeinflussen und einen schleimigen Stamm in einen schleimlosen zu verwandeln, schlugen fehl. (Aus diesem Grunde soll eine ausführliche Wiedergabe der diesbezüglichen Versuche unterbleiben). Auch auf ungünstigen Nährböden, z. B. Kartoffel- oder Endo-Agar, Anilinfarbennährböden usw. (siehe vorn), war bei kümmerlichem Wachstum die schleimige Beschaffenheit vorhanden, bzw. waren die einzelnen Kolonien fest im Nährboden eingewachsen.

Dieses „Einwachsen" und die Schleimproduktion sind m. E. zwei eng miteinander zusammenhängende Eigenschaften. Stark schleimige Kulturen wachsen stets tief und fest in den Nährboden ein und bei weniger schleimigen Stämmen lassen sich auch die Kolonien leichter vom Nährboden abstreifen. Bei einer frischen (1—2 Tage alten) Kultur sind sowohl Schleimbildung wie Einwachsen am besten ausgeprägt. Beim Abimpfen reißt der an der Oese haftende Schleimfaden zuweilen die Kolonie mit einem Teil des Nährbodens heraus. Die schleimige Beschaffenheit und das Festhaften im Agar nehmen bei den einzelnen Kulturen im Laufe der Zeit (nach 2—4 Wochen) ab und verschwinden schließlich ganz. Der Bakterienrasen läßt sich dann leicht abstreifen, es bilden sich keine Schleimfäden mehr, aber bei Anlage einer Subkultur tritt die Schleimbildung stets wieder auf, oder die Kultur geht überhaupt nicht an. Das Gleiche ist bei Züchtung unter hoher Temperatur bei 46—48° C der Fall. Wohl kann man eine einzelne Kultur schleimlos bekommen, nie aber eine schleimlos weiterwachsende Variante erzielen.

Nur bei seltenem Umimpfen (alle 8—10 Tage) kann ein stark schleimiger Stamm in geringem Grade die Fähigkeit des Einwachsens verlieren, ohne jedoch völlig schleimlos zu werden. Sobald man jedoch den betreffenden Stamm häufiger umzüchtet, wächst er auch in vollem Maße fest in den Nährboden hinein.

Nach dem Vorgehen von Shibayama, der durch Züchtung bei niederen Temperaturen schleimige Pestbazillen schleimlos züchten konnte, versuchte ich das Gleiche bei meinen Viscosum-Stämmen. Wie bereits an anderer Stelle beschrieben (11), führten diese Versuche zu keinem Resultat. Es gelang mir nicht, mehr als 4 Generationen bei Zimmertemperatur und 2tägiger Umzüchtung zu erzielen. Wenn auch diese Kulturen nur einen anscheinend trockenen rauhen Belag zeigten, so waren doch die Kolonien fest eingewachsen und es gelang nur sehr schwer, mit der Oese Material zu entnehmen. Wenn der Kulturrasen mit einigen ccm Kochsalzlösung oder Bouillon abgeschwemmt wurde, war die Flüsssigkeit in kurzer Zeit stark schleimig (wie man überhaupt an der Beschaffenheit des Kondenswassers leicht den Grad der Schleimbildung der betreffenden Kultur erkennen kann).

Auffällig war bei diesen Versuchen das Wachstum von St. 27, der auch bei Zimmertemperatur verhältnismäßig üppig wuchs und sich leicht generationsweise fortzüchten ließ. Der Bakterienrasen nahm immer mehr eine gelbliche Färbung an, bei Weiterzüchtung in Brutschranktemperatur verschwand diese Färbung. Uebereinstimmend mit dem

guten Wachstum war die Tatsache, daß dieser Stamm auch in morphologischer Hnsicht nur wenig abweichende Formen zeigte.

Durch „Auslese", i. e. tägliches Abimpfen der obersten Schrägagarkolonien auf Agar, durch mehrere Generationen hindurch, ließ sich die Schleimproduktion nicht verändern. Toeniessen erhielt so bei Friedländer-Bazillen schleimlose Mutanten und Varianten. Bei meinen Versuchen war die 12. Generation noch genau so schleimig wie die erste.

Nach meinen Versuchen ist die Schleimbildung ein stets vorhandenes Merkmal des Bact. pyosepticum viscosum equi. (Russeff ist zu dem gleichen Ergebnis gekommen.) Weder durch wechselnde Zusammensetzung der Nährböden, noch durch häufige Passagen, noch durch Züchtung bei extremen Temperaturen konnte die Schleimproduktion so zum Verschwinden gebracht werden, daß die Pyosepticum-Stämme schleimlos weiterwuchsen.

Es ist mir auch nie gelungen, von anderen Stellen völlig schleimlose Pyosepticum-Stämme zu bekommen. Stets handelte es sich bei den gesandten „schleimlosen" Pyosepticum-Stämmen um Reinkulturen anderer Bakterien, wie Coli, Kokken usw. (!). Anscheinend war bei diesen Stämmen die Ausgangskultur verunreinigt und bei den weiteren Passagen wurden die Pyosepticum-Keime vollkommen überwuchert, so daß die Schleimbildung der — in Wirklichkeit gar nicht mehr vorhandenen — „Pyosepticum-Kultur" schließlich völlig verschwand. Es möge hier darauf hingewiesen werden, daß es außerordentlich schwierig, ja in vielen Fällen unmöglich ist, verunreinigte Pyosepticum-Stämme von den unerwünschten Begleitbakterien wieder zu trennen. Selbst wenn erstere nicht überwuchert werden und absterben, gehen sie mit den Verunreinigungsbakterien eine solch innige Verbindung ein, daß auch in isolierten, bei mikroskopischer Prüfung völlig normal und charakteristisch aussehenden Kolonien bei Verunreinigung mit grampositiven Bakterien beide Bakterienarten im Gram-Präparat nachgewiesen werden konnten. (Bei Coli-Verunreinigung ist das natürlich nicht möglich. Hier muß eine Prüfung auf der bunten Reihe oder der Gassner-Platte erfolgen.) Daher versagt auch das Abimpfen von Einzelkolonien fast immer. Durch Tierpassage wird wegen der mangelnden Virulenz ebenfalls nur selten ein Erfolg erzielt. (Mießner, Lütje und Laudien berichteten gleichfalls über die Schwierigkeit, aus verunreinigten Kulturen die Pyosepticum-Keime zu isolieren.)

Säuerung. Neben der Schleimbildung werden die Säurebildung und die damit einhergehenden Veränderungen der betreffenden Nährböden nicht ganz übereinstimmend angegeben.

Milch wird nach Reinhardt gesäuert, ohne zu gerinnen, nach de Blieck und Baudet, sowie Iwanoff, gerinnt Milch stets. Nach Lütje dagegen tritt niemals Milchgerinnung ein, die Verschleimung täuscht nur öfter Gerinnung vor. Die Erklärung dieser Widersprüche scheint durch Clarenburgs Beobachtung gegeben, daß nur frische, nicht aber längere Zeit aufbewahrte, Milch zur Gerinnung gebracht wird. Ich konnte diese von Clarenburg gemachte Feststellung bestätigen.

Meine Stämme ließen im Verlaufe von 2—5 Tagen frische, schwach lackmusalkalische Milch stets gerinnen; die Schnelligkeit, mit der diese Veränderung herbeigeführt wurde, war allerdings bei den einzelnen Stämmen recht verschieden. St. 17, 20, 26, 32, 35, 36 brachten die Milch schon nach 24 Std. zur Gerinnung; die Stämme 14, 19, 22, 25, 27 dagegen erst nach 5 Tagen. Die Gerinnungszeit bei den übrigen Stämmen lag zwischen 2 und 4 Tagen. Die erstgenannten Stämme brachten übereinstimmend damit sogar alte Milch nach 2—3 Tagen zur Gerinnung, die übrigen Stämme niemals. Die geronnene Milch reagierte stets sauer.

Zuckerbouillon wird nach Clarenburg ebenfalls gesäuert, aber nicht vergoren. Nach Reinhardt und Miessner tritt keine Vergärung ein. Nach Adsersen wurden von 10 Zuckerarten 7 mit Säurebildung und 2 ohne dieselbe vergoren.

Eine Säuerung konnte ich sowohl in Milchzucker wie Traubenzucker bei allen Stämmen feststellen. Die H-Ionenzahl betrug bei Milchzucker vor der Beimpfung 7,5, nach 24stünd. Wachstum 6,6, und nach 48stünd. Wachstum 6,5. Bei Traubenzucker bewegten sich die pH-Zahlen zwischen 7,3 und 6,6 bzw. 6,4, bei gewöhnlicher Bouillon zwischen 7,7 und 7,1 bzw. 7,0. In stark alkalischer gewöhnlicher Bouillon (8,5 pH) wächst das Bact. pyosepticum nicht, dagegen ist in Zuckerbouillon der gleichen Alkaleszenz schwaches Wachstum wahrzunehmen (die H-Ionenzahl nimmt dann in 4 Tagen bis zu 7,4 ab). Gasbildung fand in keinem Falle statt.

Lackmusmolke wird nach de Blieck und Baudet, Lütje, Reinhardt und eigenen Beobachtungen stets leicht gerötet (H-Ionenzahl 7,0 bzw. 6,6 und 6,5). Nach Kowatsch, auf dessen Beobachtungen am Schluß näher eingegangen ist, rötet ein Teil der Stämme Lackmusmolke, ein Teil aber färbt sie blau (!).

Conradi-Drigalski-Agar wird nach Mießner, Lütje und Iwanoff gerötet, nach Reinhardt bleibt er unverändert. Meine Stämme führten stets eine deutliche, wenn auch nicht eben starke Rötung dieses Nährbodens herbei. Zwischen der durch das Bact. coli und durch das Bact. pyosepticum hervorgerufenen Rötung des Conradi-Drigalski-Agars bestand ein deutlicher Unterschied.

Barsiekow I und II bleiben nach Iwanoff unverändert. Nur meine Stämme 17, 20, 26, 32, 35 und 36 führten in Barsiekow I (Trbz.) eine ganz leichte Rötung herbei, bei den übrigen Stämmen blieben die Lösungen stets unverändert. Das Wachstum war in diesen Nährböden nur sehr schwach. Endo-Agar wird nach Reinhardt gerötet, nach Kowatsch teils gerötet, teils unverändert gelassen. Nach meinen Beobachtungen röteten die oben genannten, stark säurebildenden Stämme den Endo-Agar, die übrigen nicht. Das Wachstum war in allen Fällen sehr schwach.

Hiernach bildet also das Bact. viscos. equi zweifelsfrei Säure. Diese Fähigkeit besitzen mehr oder weniger alle Stämme, sehr stark ausgeprägt ist sie allerdings in keinem Falle (Barsiekow-Lösungen werden kaum beeinflußt, die H-Ionenzahl nimmt nur wenig ab, Conradi-Drigalski-Agar wird nicht sehr stark gerötet, nur frische Milch gerinnt). Nur sehr leicht reagierende lackmusneutrale Nährböden geben also einen Ausschlag. Auf verschiedene Alkaleszenz der

verwandten Nährböden sind wohl auch die widersprechenden Beobachtungen der einzelnen Autoren zurückzuführen.

Auf Malachitgrünagar trat nach Reinhardt kein Wachstum ein, nach Iwanoff ohne Farbenveränderung nur ein ganz spärliches. Kowatsch beobachtete bei einigen Stämmen (3 von 14 Stämmen) kein Wachstum, bei den übrigen Stämmen war Wachstum und Gelbfärbung des Nährbodens festzustellen. Ich konnte weder auf Malachitgrünagar noch auf dem Dreifarbennährboden nach Gaßner Wachstum beobachten.

In Neutralrotagar fanden de Blieck und Baudet ein wechselndes Verhalten des Bact. pyoc. equi bald mit, bald ohne Entfärbung. Meine Stämme wuchsen in diesem Nährboden nicht. Auf der Blutplatte (Pferde-, Hammel- und Kaninchenblut) konnte ich niemals Hämolyse beobachten. Auf Kartoffeln war gutes schleimiges Wachstum festzustellen. Der Belag war übereinstimmend mit den Beobachtungen von de Blieck und Baudet weißgelb.

Kolonieformen auf Agar und in Gelatine sind von de Blieck und Baudet als stecknadelkopfgroß, kreisrund mit glattem Rand (bei älteren Kolonien und in Gelatine öfter gelappter Rand) im Zentrum leicht eingesunken beschrieben. Die Außenzone ist hell, in der Mitte erkennt man einen dunklen, strahlenförmig nach der Randzone zu auslaufenden Stern. Ebenso beschreiben Lütje, Mießner. Adsersen, Clarenburg, Reinhardt die Kolonieformen. Bei meinen Stämmen konnte ich ebenfalls keinerlei von dieser Beschreibung abweichende Unterschiede feststellen, auch bei kümmerlichem Wachstum und bei den Kulturen, die mikroskopisch reichlich veränderte Formen zeigten, war das charakteristische Aussehen vorhanden. Am besten erkennt man die feinere Struktur in Gelatinekolonien.

Kowatsch kam auf Grund seiner Ergebnisse zu dem Schluß, daß es „österreichische" und „deutsche" Stämme mit weitgehenden Verschiedenheiten gäbe. Diese Ansicht von Kowatsch dürfte nicht zu Recht bestehen. Viele Feststellungen von Kowatsch bringen infolge Verwendung von ungeeigneten oder überflüssigen Nährböden — Pferdemistagar, dreierlei Malachitgrünagarnährböden, unempfindlicher Conradi-Drigalski-Agar, Traubenzuckeragar in hoher Schicht, Pferdeharnbouillon, Leberbouillon, Leberagar usw. — keine Klarheit, sondern nur Verwirrung. Unter Berücksichtigung aller der von Kowatsch an 13 Stämmen festgestellten Kulturmerkmale kann man keine einheitlichen Gruppen aufstellen, sondern müßte zu dem Schlusse kommen, daß das Bact. pyosepticum viscosum equi überhaupt keine einwandfrei feststehenden Kulturmerkmale aufweist. Grundlegende Unterschiede zwischen den beiden von Kowatsch aufgestellten Gruppen sind:

Die österreichischen Stämme bilden in flüssigen Nährböden keine Häutchen, wohl aber die deutschen; Lackmusmolke und Barsiekow-Lösungen werden von den ersteren gerötet, von den letzteren gebläut (!). Jene machen die Milch sauer und bringen sie zur Gerinnung, bei diesen bleibt die Milch alkalisch. Die Kolonien der österreichischen Stämme sitzen dem Nährboden fest, die der deutschen lose auf. Auf Kartoffeln wachsen die einen weiß bis weißgelb, die anderen orange bis gelbbraun.

Die österreichischen Stämme bilden keinen Schwefelwasserstoff, bei den deutschen dagegen ist dieses der Fall.

Bakterienstämme, die solch weitgehende Verschiedenheiten aufweisen, gehören nicht einer gemeinsamen Gruppe an. Man erinnere sich, welche Schlüsse von einer graduellen Verschiedenheit hinsichtlich der Säurebildung bei der Beurteilung eines Angehörigen der Typhus- oder Paratyphusgruppe gezogen werden. Hier aber liegen qualitative Unterschiede, nicht nur bezüglich der Säure-, sondern auch bezüglich der Schwefelwasserstoff-, der Häutchen- und der Farbstoffbildung vor. Wir glauben uns zu dem Schlusse berechtigt, daß es sich bei Kowatschs sogenannten „deutschen“ Stämmen trotz vorhandener Schleimbildung nicht um Viscosumstämme gehandelt hat. (Leider konnten wir von Kowatsch keine deutschen, sondern nur österreichische Stämme, die durchaus mit unseren Visocsumstämmen übereinstimmten, erhalten.)

3. Pathogenität.

Das Bact. pyosepticum viscos. equi ist ein spezifischer Eiter- und Septikämieerreger des Pferdes (Adsersen, de Blieck, Mießner, Lütje u. a.). Ueber die wechselnde, in der Regel äußerst geringe Pathogenität der Viscosum-Bakterien für die kleinen Versuchstiere sind sich fast alle Autoren einig.

Nach de Blieck und Baudet, Lütje und Clarenburg sterben Mäuse selbst nach intraperitonealer Infektion durchaus nicht immer (nach Mießner und Berge allerdings fast stets). Die subkutane und perorale Impfung der Mäuse führt nach de Blieck und Baudet, Clarenburg und Mießner nur in seltenen Fällen zum Tode. Meerschweinchen sterben nach de Blieck und Baudet bei intraperitonealer Infektion nicht in jedem Falle, manchmal nach 24 Std., manchmal erst nach Tagen. Bei subkutaner Infektion kommt es gelegentlich zur Bildung von Abszessen.

Das Kaninchen ist nach Adsersen, de Blieck, Clarenburg, Lütje und Mießner für eine Viscosum-Infektion nur wenig empfänglich. Reinhardt konnte 2 Kaninchen durch intravenöse Impfungen tödlich infizieren (Tod nach 3 Tagen bzw. 24 Std.) und vermutet, da der Bakteriennachweis negativ war, eine Intoxikation. Auch nach Pane, von dem es allerdings zweifelhaft bleibt, ob er tatsächlich das Bact. pyosepticum viscos. equi in Händen gehabt hat, sterben Kaninchen nach der Einspritzung von Viscosum-Kulturen an Intoxikation.

Ich injizierte von jedem meiner 20 Stämme je 0,5 ccm je einer weißen Maus intraperitoneal. Es waren nach 24 Std. nur vier Tiere (Stamm 20 und 25) mit positivem Bakterienbefund in allen Organen gestorben. Die übrigen Tiere waren 3—4 Tage krank, es starb jedoch weiterhin keines dieser Tiere, sie hatten sich nach 6 Tagen sämtlich wieder erholt. Bei einer abermaligen Infektion je zweier Mäuse mit den Stämmen 20 und 25 starben nur je eine Maus. Die beiden anderen wurden krank, blieben aber am Leben.

Durch Mäusepassagen war die Virulenz nicht zu erhöhen. So erwies sich der Stamm 25 auch nach mehrmaliger Mäusepassage öfters als durchaus avirulent.

Nur 3 Stämme (20, 32 und 33) erzeugten bei Meerschweinchen nach subkutaner Injektion von 1,0 ccm Abszesse mit charakteristischem, viskösen Eiter. Die Abszesse heilten bald aus. Am 1., 2. und 3. Tage nach der Infektion konnten aus dem Eiter Pyoseptikumkeime isoliert werden. Am 4. Tage fanden sich nur noch Keime saprophytischer Natur. Durch intraperitoneale Injektion der gleichen Dosis wurden nach 1 bzw. 2 bzw. 4 Tagen die mit den Stämmen 14, 20 und 27 gespritzten Meerschweinchen getötet. Die übrigen Tiere blieben teils überhaupt gesund, teils erkrankten sie nur vorübergehend. In allen 3 Fällen ließen sich nur aus dem fadenziehenden Bauchhöhlenexsudat Viskosumkeime isolieren. In den Organen fanden sich keine Bakterien.

Außerordentlich wechselnd sind die Ergebnisse nach Infektion von Kaninchen mit Pyosepticum-Keimen. Ich habe diese Versuche bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben (11). Es fand stets der gleiche Stamm (20) Verwendung. Manche Tiere sterben direkt im Anschluß an eine iv. Injektion von 0,5 ccm Kultur ohne bakteriologischen Befund (auch von Pane beobachtet). Möglicherweise könnte sich hier die schleimige Injektionsflüssigkeit, trotz langsamer Injektion, im Blute nicht genügend verteilt und Gefäßlumina in Lunge und Herz verlegt haben. Hiergegen spricht allerdings die Tatsache, daß es auch mehrmals im Anschluß an die Injektion abgetöteter Kulturen zu Koma und Tod nach einigen Stunden kam. In einem Falle entwickelte sich eine 3tägige, letal endende Sepsis mit positivem Bazillenbefund in allen Organen. Ein weiteres Tier vertrug 1,0 lebend iv. sehr gut, ohne Krankheitserscheinungen zu zeigen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß 1) die Virulenz der Pyosepticum-Bazillen für die kleineren Versuchstiere sehr gering, daß 2) die Empfänglichkeit der einzelnen Individuen gleicher Tierart für eine Pyoseptikuminfektion recht verschieden ist, und daß 3) aller Wahrscheinlichkeit nach die Pyosepticum-Bazillen Toxine ausscheiden, bzw. bei ihrem Zerfall Toxine frei werden, wenn auch der Nachweis der Toxine, eben wegen der wechselnden Empfänglichkeit der betreffenden Versuchstiere, sehr schwierig ist.

Pane wies in dem Filtrat von Bouillonkulturen ein Toxin nach. Es gelang mir im Gegensatz dazu nicht, durch Filtration von einfachen Bouillonkulturen, Milchzuckerbouillonkulturen, Traubenzuckerbouillonkulturen, Serumbouillonkulturen, Blutbouillonkulturen verschiedenen Alters und verschiedener Alkaleszenz ein im Filtrat vorhandenes Toxin nachzuweisen. (Ich gebe deshalb diese Versuche nicht im einzelnen wieder.) Lediglich bei der Verimpfung von Vakzinen an Kaninchen konnte man auf eine Intoxikation schließen. Daß Pferde auf eine Vakzineeinspritzung mit Fieber und Anschwellungen an der Injektionsstelle erkrankten, kann bei den spezifischen Beziehungen der Viskosumbakterien zu Pferden lediglich als eine Antigenreaktion und nicht als ein Beweis für das Vorhandensein von Toxinen gewertet werden.

4. Resistenz.

Es wurde weiterhin die Widerstandsfähigkeit des Bact. pyosepticum viscosum equi gegenüber äußeren Einflüssen einer Prüfung unterzogen.

Das Temperaturoptimum liegt bei 37° C, das Minimum bei 17—19°, und das Maximum bei 46—48°. Einige Grade über dem Minimum bzw. unter dem Maximum genügen aber schon, um ein recht gutes Wachstum der Bąkterien hervorzurufen. Die Wachstumsbreite ist also verhältnismäßig groß.

Kulturen, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, sterben schnell ab. Indessen werden hierüber verschiedene Angaben gemacht. Nach Beller (zit. nach Russeff) bleiben die Kulturen 6 Monate, nach Magnusson 6 Wochen, und nach v. Sande 6 Tage lebensfähig. Es fällt schwer, bei solchen Ergebnissen an die verschiedene Vitalität des gleichen Erregers zu glauben. Zumindest Beller hat wahrscheinlich keinen Pyoseptikumstamm in Händen gehabt bzw. bei der Umzüchtung nach 6 Monaten nicht mehr in Händen gehabt. Wahrscheinlich ist der Stamm durch andere Bakterien überwuchert worden.

Von 20 geprüften Stämmen blieb nur ein einziger (V. 30) länger als 3 Wochen (23 Tage) lebensfähig. Bei der Mehrzahl gingen jedoch Subkulturen schon nach 8—16 Tagen nicht mehr an. Ein Stamm (V 24) war gelegentlich bereits 6 Tage nach der letzten Ueberimpfung ausgestorben. In Bouillon behalten die Bakterien ihre Lebensfähigkeit etwas länger, jedoch im Durchschnitt nicht über 14 Tage. Sachweh empfiehlt den Zusatz von defibriniertem Blut zu den Nährböden, um absterbende oder schlecht wachsende Stämme wieder zu regenerieren. Nach Lütje wachsen die Kulturen besonders gut auf 2,5proz. Glyzerin- und 2,5proz. Pferdeserumagar. (Doch sterben nach Lütje trotz 14tägigem Umzüchten die Kulturen häufig aus.) Russeff verwandte Fohlenfleischagar. Ich habe von der Verwendung dieser Spezialnährböden keinen Vorteil gesehen. Nach meinen Beobachtungen gibt es nur ein Mittel, um die Stämme gut wachsend zu erhalten: Die Kulturen müssen alle 5—6 Tage umgezüchtet werden. Der Nährboden an sich sowie die Art der Kultur, ob Schräg- oder Stichkultur, spielen dann keine ausschlaggebende Rolle. Wir verwenden gewöhnlichen Pferdefleischagar.

Durch Trocknen werden die Bakterien ebenfalls schnell vernichtet. Sterilisierte Seidenfäden wurden in Bouillonröhrchen gefüllt und diese nach nochmaliger Sterilisation mit Pyosepticum-Bazillen beimpft. Nach 24stünd. Wachstum wurden die Fäden in eine Petri-Schale gefüllt und dieselbe, nach Ablaufenlassen der übriggebliebenen Flüssigkeit, bei 37° C in den Brutraum gestellt. Stündlich wurden mit 2—3 Fäden Bouillonröhrchen beimpft. Nach 32stünd. Aufenthalt im Brutschrank waren keine entwicklungsfähigen Keime mehr vorhanden.

Zur Prüfung der Wirkung von Desinfektionsmitteln fanden solche durchwachsenen Seidenfäden keine Verwendung, da — wie durch Kontrollversuche festgestellt wurde — selbst nach Abspülen der Fäden in Kochsalzlösung die eingesaugte Menge des Desinfektionsmittels schon an sich genügte, um, in Bouillon eingebracht, das Wachstum von Pyosepticum-Bazillen zu verhindern. Ich brachte daher entsprechende Mengen einer Verdünnung des Desinfektionsmittels in 24stünd., gut gewachsene Bouillonkulturen und entnahm von hier nach 1, 2, 5, 10, 20. 30 Min. und 1 Std. zwei Oesen, die ich in Bouillon impfte. Aus den Prüfungskulturen wurden vor Zusatz des Desinfektionsmittels Kontrollen angelegt, in die außerdem noch 2 Oesen nach Zusatz desselben

Tabelle der geprüften Stämme.

Nr. des Stammes	Isoliert aus Tiergattung	Isoliert aus Organ	Isoliert von	Eingereiht am	Ausgeschieden am	Bemerkungen
14	Fohlen	Niere	Impfsfoffwerk, Eilenburg	11. 4. 1923	.	zäh-schleimig, o. Bes.
17	"	"	"	2. 1. 1923	.	zäh-schleimig, starke Säurebildung
19	"	sämtl. Organ.	"	1. 3. 1924	.	zäh-schleimig, o. Bes.
20	"	dgl.	"	24. 3. 1924	.	zäh-schleimig, starke Säurebildung
21	"	?	Reichsserumeinrichtung, Rotterdam	24. 2. 1925	.	zäh-schleimig, o. Bes.
22	"	?	"	"	.	verhältnismäßig wenig schleimig
23	"	?	"	"	.	zäh-schleimig, o. Bes.
24	"	?	"	"	20. 4. 1925	6 Tage nach dem letzten Umzüchten eingegangen, zähschleimig, o. Bes.
25	"	?	"	"	24. 8. 1925	Verunreinigt, nicht wieder zu isolieren, zäh-schleimig, o. Bes.
26	"	?	"	"	.	sehr festhaftend
27	"	?	"	"	.	sehr zäh und schleimig. Wächst bei Zimmertemperatur üppig gelb, ohne morphologische Veränderungen
28	"	?	Tierseuchenamt der Landwirtschaftskammer Breslau	3. 4. 1925	.	zäh-schleimig, o. Bes.
29	"	?	"	"	.	zäh-schleimig, Bazillen erscheinen durchweg etwas größer als gewöhnlich
30	Ferkel	sämtl. Organ.	Impfstoffwerk, Eilenburg	27. 3. 1925	.	sehr zäh und schleimig. Kulturen bleiben 23 Tage lebensfähig
31	?	?	Staatsinstitut zur Erforschung der Fohlenkrankheiten, Stade	4. 4. 1925	12. 4. 1925	Kultur, am 4. 4. angelegt, ging nicht an
32	?	?	"	"	.	zäh-schleimig, o. Bes., starke Säurebildung
33	Fohlen	Niere	Tierseuchenstelle (Veterinäranstalt) Jena	20. 4. 1925	.	verhältnismäßig wenig schleimig, nicht sehr festhaftend
34	"	"	"	"	.	sehr festhaftend, zäh-schleimig
35	"	sämtl. Organ.	Impfstoffwerk, Eilenburg	27. 4. 1925	.	sehr festhaftend, zäh-schleimig, starke Säurebildung
36	?	?	Alpenländisches Impfstoffwerk, Graz	16. 5. 1925	.	sehr festhaftend, zäh-schleimig, starke Säurebildung

eingefüllt wurden, um zu beweisen, daß die beim Beimpfen übertragene Menge der Desinfektionsflüssigkeit nicht imstande war, das Wachstum der Pyosepticum-Bazillen zu verhindern.

Die Ergebnisse der Desinfektionsprüfung waren folgende: Eine 1prom. Sublimatlösung tötete die Pyosepticum-Bazillen in 1 Min. ab, eine 0,5-proz. Caporitlösung in 5 Min., eine 0,1proz. Sagrotanlösung in 10 Min., eine 0,3proz. Formalin- und eine 0,5proz. Phenollösung in 20 Min., eine 2proz. Yatrenlösung in 1 Std., und eine 0,3proz. Wasserstoffsuperoxydlösung in 3 Std. Coli-Bazillen wurden demgegenüber bei gleichem Prüfungsmodus durch eine 0,1proz. Sublimatlösung erst nach 10 Std. abgetötet.

Die Widerstandsfähigkeit des Bact. pyosepticum viscos. equi gegenüber äußeren Einflüssen ist also ziemlich gering. Lütjes Vermutung, daß als Infektionsquelle für die Neugeborenen vorwiegend Beschmutzung durch den Mutterkot in Betracht kommt, dürfte zu Recht besstehen.

Zusammenfassung.

1) Das Bact. pyosepticum viscosum equi zeigt in Kulturen einen erheblichen Polymorphismus, der durch geeignete Züchtungsverfahren in das Groteske gesteigert werden kann und auf verschiedenen Nährböden verschieden stark ausgeprägt ist. Durch fraktioniertes Zentrifugieren lassen sich aus jeder Pyosepticum-Kultur bis zu einem gewissen Grade Stäbchen und Kokkenformen trennen. Es ist unmöglich, auf Grund des mikroskopischen Bildes eine Pyosepticum-Kultur bzw. deren Reinheit zu diagnostizieren. Hierfür ist 2) das kulturelle Verhalten der fraglichen Stämme maßgebend, das bei 20 Stämmen verschiedener Herkunft eingehend geprüft wurde. Insbesondere die Schleim- und Säurebildung sind so konstante und hervorstechende Merkmale, daß das Fehlen dieser Kriterien gegen die Diagnose „Pyosepticum-Kultur“ spricht, und es gegenteilige Befunde anderer Autoren zweifelhaft erscheinen lassen, ob in den betreffenden Fällen tatsächlich Pyosepticum-Kulturen untersucht wurden. Diese Merkmale in Verbindung mit der Herkunft der Bakterien und gegebenenfalls der Agglutination. über die an anderer Stelle berichtet wurde (11), sichern die Diagnose. Das kulturelle Verhalten aller geprüften Stämme stimmte überein, eine weitere Differenzierung der Pyosepticum-Stämme nach kulturellen Gesichtspunkten, wie sie von anderer Seite vorgenommen wurde, ist nicht möglich. — 3) Die Pathogenität für kleine Versuchstiere ist gering, indessen scheiden die Pyosepticum-Bakterien in vivo wirksame Toxine ab. — 4) Die Resistenz der Pyosepticum-Keime gegenüber äußeren Einflüssen ist nur gering.

Literatur.

1) Adsersen, Monatsschr. f. prakt. Tierheilk. Bd. 31. S. 524. — 2) Ders., Ref. Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1920. S. 424. — 3) Beller, M. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 181. — 4) De Blieck u. Baudet, Ref. Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1920. S. 57. — 5) Ders. u. v. Heelsbergen, Ref. Dtsch. tierärztl. Wochenschr 1920. S. 55. — 6) Clarenburg, Ztschr. f. Inf. d. Haust. Bd. 27. S. 193. — 7) Eickman, Tierärztl. Rundsch. 1923. S. 65. — 8) Eisenberg, Weichardts Ergebnisse d. Immunitätsforsch. usw. Bd. 1. S. 114. — 9) v. Eisler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. S. 546. — 10) Gamaleia, Elemente d. allgem. Bakt. Berlin 1900; zit. nach Kraus-Uhlenhuth, Handb. usw. Bd. 2. S. 1440. — 11) Goerttler, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1925. S. 545. — 12) Gotschlich, Kolle-Wassermann. Handb. usw. Bd. I. S. 45. — 13) Hammerl, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. S. 611. — 14) Hankin u. Leumann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 22. S. 438. — 15) Hata, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. S. 289. — 16) Hinterberger u. Reitmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. S. 169. — 17) Iwanoff, [Inaug. Diss.]. Hannover 1921. — 18) Koch, [Inaug. Diss.]. Hannover 1924. — 19) Kowatsch, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1925. S. 143. — 20) Kruse u. Pansini, Ztschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 11. S. 279. — 21) Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. I. S. 230. Jena. (Gustav Fischer.) — 22) Langhoff, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1923. S. 258. — 23) Laudien, [Inaug. Diss.]. Hannover. 1924. — 24) Lütje, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1921. S. 46. — 25) Ders., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1922. S. 262. — 26) Ders., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1923. S. 269. — Ders., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 26. — 28) Ders., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 398. — 29) Maassen, Arb. a. d. Kais. Ges. Amt. Bd. 21. S. 385; zit. nach Gotschlich. s. Nr. 12. — 30) Magnusson, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1920. S. 144. — 31) Matzushita, Ztschr. f. Hyg. Bd. 35. S. 495. — 32) Mießner, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1921. S. 185. — 33) Ders., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1923. S. 349. — 34) Ders., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1923. S. 480. — 35) Ders. u. Berge, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1922. S. 482. — 36) Ders. u. Wetzel, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 227. — 37) Otto, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1924. S. 260. — 38) Pane, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. S. 279. — 39) Reinhardt, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1922. S. 625. — 40) Ders., Monatschr. f. prakt. Tierheilk. 1921. S. 154. — 41) Russeff, [Inaug. Diss.]. Hannover 1925. — 42) Sabella, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. S. 411. — 43) Sachweh, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1921. S. 458. — 44) Ders., Berl. tierärztl. Wochenschr. 1922. S. 101. — 45) v. Sande, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1921. S. 277. — 46) Shibayama, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. S. 486. — 47) v. Straaten, Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1919. S. 456.— 48) Toeniessen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. S. 329.

Ueber den Einfluss verschiedener Reize auf den Komplementtiter bei Kaninchen.

[Aus dem serologisch-mikrobiologischen Institut von Prof. Dr. Griesbach, Bad Homburg. (Leiter: Dr. Rolf Griesbach.)]

Von **Georg Rauch**, prakt. Tierarzt in Kehl i. B.

Die Beobachtungen, die ich gelegentlich bei Komplementuntersuchungen von Seren teils gesunder, teils kranker Tiere vor und nach einem therapeutischen Eingriff unternahm, wiesen mich auf die Möglichkeit, daß es gelingen könnte, den Komplementtiter durch Einwirkung von Reizen bis zu einem gewissen Grade zu erhöhen. Meine Vermutungen bezüglich einer Komplementerhöhung erstreckten sich insbesondere auf solche Reize, welche in hohem Grade mit einer spezifischen oder unspezifischen Antikörperbildung in dem betreffenden Organismus einhergehen, ohne direkte anaphylaktische Erscheinungen hervorzurufen.

Sollte diese Vermutung experimentelle Bestätigung finden, so ließen sich wichtige Rückschlüsse auf die Wirkungshöhe verschiedener Therapeutika einerseits, auf die Prognose einer Erkrankung anderseits ziehen, da ja nach Bickel, Cori und Radnitz, Eicke und Mascher, R. Griesbach, Shaw bekannt ist, daß eine Komplementerniedrigung eintritt — gleichgültig, bei welchen Individuen — wenn eine marantische Erkrankung vorliegt. Auch die schon durch Lebensweise und Fütterung von Meerschweinchen bedingte Inkonstanz ihres Komplementes, wie sie beispielsweise beim hämolytischen Vorversuch für die Wassermannsche Reaktion zutage tritt, ist bekannt (Hilgers, Kaup u. a.).

Um nun irgendwelche Wechselbeziehungen zwischen Reiz und Komplement ausfindig zu machen, stellte ich mir die Aufgabe, das Komplement jeweils nach Einwirkung verschiedenartiger Reize — welche ich in Gruppen einteilte — bezüglich seiner Wirkungsbreite in Verbindung mit hammelblutlösendem Ambozeptor und Hammelblutkörperchen zu messen.

Diese Messung geschah in ähnlicher Weise, wie sie beim hämolytischen Vorversuch für die Wassermannsche Reaktion geübt wird, und zwar mit Verdünnungen des Komplementes von 1:1 bis 1:48 bei konstantem Ambozeptor- und konstantem Hammelblutkörperchengehalt.

Gegen eine Methodik, welche mit Komplementverdünnungen arbeitet, äußerten v. Liebermann, v. Fenyvessy, Bordet und Gay (zit. b. Bender und Prausnitz), v. Fenyvessy u. Freund, Thomsen, Scheller) Bedenken, da nach deren Ansicht Komplement in unverdünntem Zustand schwächer wirkt als in mäßiger Verdünnung.

Ich versuchte daher die Methodik insofern zu ändern, als ich mit konstanter Komplement- und Hammelblutkörperchenmenge, aber mit austitrierten Ambozeptorverdünnungen arbeitete, eine Methode, die ich später als noch ungenauer fallen ließ.

In der Voraussetzung, daß eine mögliche Komplementerhöhung — wenn sie durch meine Versuchsanordnung eintreten sollte — auch durch relativ grobe Methoden in potenziert steigenden Verdünnungen des Komplementes einwandfrei nachzuweisen ist, konnte ich auf eine exakte Hämoglobinablesung, wie sie bei Komplementschwund von Bender u. Prausnitz angegeben wurde, verzichten, zumal da bei meinen Ergebnissen nicht die absolute Komplementhöhe, sondern der relative Vergleichstiter vor und nach einem Eingriff zu bewerten ist.

Am geeignetsten erschienen mir für meine Versuche Kaninchen, auf welche ich folgende Gruppen von Reizen einwirken ließ:

Gruppe I: Einwirkung von ultravioletten Strahlen durch Höhensonne.
Gruppe II: Intravenöse Injektionen von kolloiden Metallen:
a) Triphal (Gold), b) Dispargen (Silber), c) Cyarsal (Hg.).
Gruppe III: Sterilisantia:
a) Neosalvarsan, b) Yatren, c) Rivanol.
Gruppe IV: Unspezifische Proteinkörper:
a) Aolan, b) Novoprotin, c) Caseosan, d) Lactosserin.
Gruppe V: Spezifische Reizkörper; Vakzine von:
a) Staphylokokken, b) Gonokokken, c) Streptokokken, d) Milchsäurebazillen.
Gruppe VI: Septische Infektionsstoffe; virulente
a) Staphylokokken, b) Gonokokken, c) Streptokokken.

Außerdem gelangten zur intravenösen Injektion verschiedene artfremde Seren, eine 10proz. Milchzuckerlösung (Renovaskulin), gewaschene Hammelblutkörperchen, Eigenblut, alkoholische Organextrakte (mit hauptsächlicher Wirkung der darin enthaltenen Lipoide (Cholesterinlösungen, unsterile und ungekochte Milch und schließlich ein hämoglobinzerstörendes Reduktionsmittel: Cignolin.

Ueber derartige oder ähnliche Versuche ist in der Literatur, soweit mir diese zugänglich war, nur wenig bekannt.

Es berichten lediglich über Komplementerhöhung bei Meerschweinchen nach Höhensonnenbestrahlung Koopmann als erster, während Brooks behauptet, daß das Komplement durch ultraviolettes Licht zerstört wird; des weiteren über Komplementanstieg bei Kaninchen und Menschen durch Ueberhitzen des Körpers Bender u. Prausnitz, bei Fiebernden Lüdke, Cori u. Radnitz, Breton, Massol u. Minet, über Komplementabfall gleichmäßig mit sinkender Temperatur beim Pferd Gutsche, und schließlich über Komplementschwund infolge von Anaphylaxie Friedberger u. Cederberg, Busson u. a.

Meine genaue Versuchsanordnung war folgende:
Jedem Kaninchen wurden unmittelbar vor der Injektion bzw. vor den in oben angeführten Gruppen angegebenen Eingriffen 4–5 ccm Blut abgenommen, dieses

zentrifugiert und mit dem überstehenden aktiven Serum ein Komplementvorversuch angestellt.

Zu diesem Zwecke stellte ich mir jeweils die doppelten Serumverdünnungen in der geraden Reihe 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32; in der ungeraden Reihe 1:3, 1:6, 1:12, 1:24, 1:48 und in der Zehnerreihe 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, her, so daß sich Wirkungen des Komplementes in gleichmäßigen Etappen vom unverdünnten Komplement bis zur Menge von 0,007 ccm noch nachweisen ließen.

Durch die Umpipettierung in den potenzierten Reihen erreichte ich, daß in jedem Röhrchen die gleiche Flüssigkeitsmenge vorhanden war; ich wählte als solche 0,25 ccm. Hierzu setzte ich 0,25 ccm einer Ambozeptorverdünnung 1:100 mit dem staatlich geprüften hammelblutlösenden Titer 1:2000 und 0,25 ccm einer Hammelblutkörperchenaufschwemmung 1:20.

Alle Lösungen und Verdünnungen wurden mit 0,85proz. Kochsalzlösung angesetzt.

Zur besseren Sichtbarmachung der Reaktion füllte ich zuletzt jedes Röhrchen mit 0,5 ccm NaCl-Lösung, also bis zum Gesamtvolumen von 1,25 ccm auf.

Nach gutem Durchschütteln wurden alsdann die Versuche 1 Std. im Brutschrank gehalten, worauf Ablesung nach 24 Std. erfolgte.

Meine Bezeichnungen für den Grad der eingetretenen Hämolyse in den folgenden Tabellen lehnen sich an die für die Wassermannsche Reaktion gültigen an; dabei bedeutet „Spur" die noch eben wahrnehmbare Komplementwirkung in Form der noch schwach rötlich gefärbten Kochsalzlösung über der Kuppe der zu Boden gesunkenen Hammelerythrozyten.

In derselben Weise gelangten die Seren zur Untersuchung, die nach 2, 12 oder 24 Std. post injectionem gewonnen wurden.

Jeder Versuch wurde zur Kontrolle an zwei verschiedenen Tieren unter genau gleichen Versuchsbedingungen angestellt.

Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

Gruppe I.

	a) Vorversuch	b) Nachversuch
a) Kaninchen 1, weibl.	1:1 — 0	1:1 — 0
Rasse: Blauer Wiener	1:2 — 0	1:2 — 0
Gewicht 2,25 kg	1:3 — +	1:3 — +
b) 30 Min. Höhensonne	1:4 — ++	1:4 — ++
80 cm Abstand	1:6 — +++	1:6 — ++
Nach 2 Std. Blutentnahme	1:8 — Spur	1:8 — Spur
Klinisch o. B.		1:10 — „
Kaninchen 2, weibl. (Kontrolle)	a) 1:6 — Spur	b) 1:10 — Spur
Rasse: Blauer Wiener		
Gewicht 2,1 kg		
a) Kaninchen 3, weibl.	1:1 — 0	1:1 — 1:4 — 0
Rasse: Blauer Wiener	1:2 — +	1:5 — +
Gewicht 3,75 kg	1:3 — +++	1:6 — +
b) 30 Min. Höhensonne	1:4 — Spur	1:8 — +
Nach 3 Std. Blutentnahme		1:10 — +
Klinisch o. B.		1:12 — ++
		1:16 — ++
		1:20 — +++
		1:24 — +++
		1:32 — Spur
Kaninchen 4, weibl. (Kontrolle)	a) 1:6 — Spur	b) 1:24 — Spur
Rasse: Blauer Wiener		
Gewicht 4,0 kg		

a) Kaninchen 5, weibl. **Bastard (grau-weiß)** **Gewicht 2,75 kg** **b) 30 Min. Höhensonne** **80 cm Abstand** **Nach 1/2 Std. Blutentnahme**	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — +++ 1:5 — Spur	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — ++ 1:4 — ++ 1:5 — +++ 1:6 — +++ 1:8 — Spur
Kaninchen 6, weibl. (Kontrolle) **Bastard (schwarz-weiß)** **Gewicht 3,0 kg**	a) 1:4 — Spur	b) 1:6 — Spur
a) Kaninchen 7, männl. **Rasse: Belgischer Riese** **Gewicht 4,5 kg** **b) 10 Min. Höhensonne** **80 cm Abstand** **Nach 1/2 Std. Blutentnahme**	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — + 1:4 — ++ 1:5 — +++ 1:6 — Spur
Kaninchen 8, männl. (Kontrolle) **Rasse: Belgischer Riese** **Gewicht 4,3 kg**	a) 1:4 — Spur	b) 1:5 — Spur
a) Kaninchen 9, männl. **Bastard (grau)** **Gewicht 3 kg** **b) 30 Min. Höhensonne** **80 cm Abstand** **Rücken rasiert** **Nach 2 Std. Blutentnahme** **Klinisch o. B.**	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — ++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — + 1:4 — ++ 1:5 — ++ 1:6 — +++ 1:8 — Spur 1:10 — Spur
Kaninchen 10, männl. (Kontrolle) **Bastard (Albino)** **Gewicht 2,8 kg** **Rcüken rasiert**	a) 1:5 — Spur	b) 1:10 — Spur
a) Kaninchen 11, weibl. **Bastard (schwarz)** **Gewicht 3,2 kg** **b) 30 Min. Höhensonne** **80 cm Abstand** **Rücken rasiert** **Nach 3 Std. Blutentnahme**	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — + 1:4 — ++ 1:5 — +++ 1:6 — Spur	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — +++ 1:5 — +++ 1:6 — Spur
Kaninchen 12, weibl. (Kontrolle) **Bastard (Albino)** **Gewicht 3,1 kg** **Rücken rasiert**	a) 1:5 — Spur	b) 1:6 — Spur
a) Kaninchen 13, männl. **Bastard (schwarz)** **Gewicht 3,4 kg** **b) 30 Min. Höhensonne** **80 cm Abstand** **Rücken rasiert** **Nach 1/2 Std. Blutentnahme**	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — + 1:4 — ++ 1:5 — ++ 1:6 — +++ 1:8 — Spur	idem, wie a)

Kaninchen 14, männl. (Kontrolle) **Rasse: Blauer Wiener** **Gewicht 3,8 kg** **Rücken rasiert**	**a) 1:5 — Spur**	**b) 1:8 — Spur**

a) Kaninchen 15, weibl.	**1:1 — 0**	**1:1 — 0**
Rasse: Belgischer Riese	**1:2 — +**	**1:2 — 0**
Gewicht 3,9 kg	**1:3 — ++**	**1:3 — +**
b) 10 Min. Höhensonne	**1:4 — Spur**	**1:4 — ++**
80 cm Abstand		**1:5 — ++**
Rücken rasiert		**1:6 — +++**
Nach 1/2 Std. Blutentnahme		**1:8 — Spur**

Kaninchen 16, weibl. (Kontrolle) **Rasse: Belgischer Riese** **Gewieht 4.2 kg**	**a) 1:5 — Spur**	**b) 1:8 — Spur**

Aus diesen 32 Versuchen der Gruppe I kann einwandfrei festgestellt werden, daß eine deutliche Komplementerhöhung bei einigen Tieren nach der Einwirkung von ultravioletten Strahlen eingetreten ist. Eine exakte Gesetzmäßigkeit in bezug auf die Bestrahlungszeit einerseits und die Zeit der Blutentnahme nach der Bestrahlung anderseits läßt sich nicht ableiten, doch scheint das Maximum des Komplementanstieges nach 2 Std. eingetreten zu sein, um dann wieder langsam auf die Norm zu fallen.

Auffallend ist bei Tier 9 und 15 (nebst Kontrollen) die intensivere Wirkung der Höhensonne auf einen Komplementanstieg dadurch, daß die Tiere rasiert wurden; durch diese Versuche wird die Möglichkeit ausgeschaltet, daß die Komplementerhöhung nach Ultraviolettbestrahlung lediglich auf einer Ozoninhalation beruht!

Weiterhin ist bemerkenswert, daß die Tiere 3—6 bei einer halbstündigen Bestrahlungszeit deutlichen Komplementanstieg aufweisen, während dies bei den rasierten Tieren 11—14 nicht festzustellen ist. Hier handelt es sich bereits um die bei zu langer Bestrahlungsdauer eintretende schädigende Wirkung auf das Komplement, welche nach entsprechender Ausdehnung bis zum Exitus des Individuums führen kann. Koopman und auch R. Griesbach (Manuskript aus dem oben bezeichneten Institut, welches mir hier vorgelegen hat) haben schon auf diese Tatsache bei Meerschweinchen hingewiesen.

Schließlich erhellt aus den Versuchen, daß die von mir eingeschlagene Methodik zur Bestimmung von Komplementerhöhung durchaus brauchbar ist.

Gruppe II.

	a) Vorversuch	b) Nachversuch
a) Kaninchen 17, weibl.	1:1 — 0	
Rasse: Blauer Wiener	1:2 — +	
Gewicht 4,5 kg	1:3 — ++	idem, wie a)
b) 0,01:2 ccm Triphal iv.	1:4 — +++	
Allgemeinbefinden nicht gestört; Futteraufnahme gut; kein Schüttelfrost	1:5 — Spur	
Blutentnahme nach 2,12 u. 24 Std.		

Kaninchen 18 (Kontrolle)	1:5 — Spur	1:6 — Spur
a) Kaninchen 19, männl. Rasse: Belgischer Riese Gewicht 3,5 kg b) 2 ccm Dispargen iv. Klinisch o. B. Blutentnahme nach 16 u. 24 Std.	1:1 — 0 1:2 — ++ 1:3 — +++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — +++ 1:4 — Spur

Kontrolle keine.

a) Kaninchen 20, weibl. Rasse: Blauer Wiener Gewicht 4,1 kg b) 0,2 ccm Cyarsal iv. Klinisch o. B. Blutentnahme nach 2 u. 12 Std.	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — +++ 1:5 — Spur	idem wie a)
Kaninchen 20. Blutentnahme nach 24 Std.	idem	idem

Gruppe III.

	a) Vorversuch	b) Nachversuch
a) Kaninchen 21, männl. Rasse: Blauer Wiener Gewicht 4,0 kg b) 0,08–5,0 ccm Neosalvarsan iv. Klinisch o. B. Blutentnahme nach 3 Std.	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — +++ 1:5 — Spur
Kaninchen 22, weibl. (Kontrolle) Gewicht 3,3 kg	1:5 — Spur	1:4 — Spur
a) Kaninchen 23, weibl. Bastard Gewicht 2,8 kg b) 1,5 ccm Yatren iv. Klinisch o. B. Blutentnahme nach 12 Std.	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — +++ 1:5 — Spur	idem wie a)

Kontrolle keine.

a) Kaninchen 24, weibl. Rasse: Blauer Wiener Gewicht 4,5 kg b) 7 ccm Rivanollösung 1:2000 iv. Klinisch o. B. Blutentnahme nach 12 u. 24 Std.	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — +++ 1:4 — Spur	idem wie a)

Kontrolle keine.

Gruppe IV.

	a) Vorversuch	b) Nachversuch
a) Kaninchen 25, männl. Bastard (grau) Gewicht 3,0 kg b) 0,5 ccm Aolan intrakutan Klinisch o. B. Blutentnahme nach 2 u. 16 Std.	1:1 — 0 1:2 — ++ 1:3 — +++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — +++ 1:4 — Spur
Kaninchen 26, männl. Bastard (braun-weiß) Gewicht 3,4 kg Blutentnahme nach 24 Std.	a) 1:5 — Spur	b) 1:4 — Spur
a) Kaninchen 27, weibl. Rasse: Blauer Wiener Gewicht 3,6 kg b) 1 ccm Novoprotin iv. Klinisch o. B. Kein Schüttelfrost Blutentnahme nach 3 Std.	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — ++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — ++ 1:3 — +++ 1:4 — Spur
Kaninchen 28, weibl. (Kontrolle) Rasse: Blauer Wiener Gewicht 3,2 kg	a) 1:4 — Spur	b) 1:8 — Spur (!)
a) Kaninchen 29, männl. Bastard Gewicht 2,8 kg b) 1,0 ccm Caseosan iv. Klinisch o. B. Kein Schüttelfrost Blutentnahme nach 12 u. 24 Std.	1:1 — 0 1:2 — + 1:3 — +++ 1:4 — Spur	idem wie a)
Kaninchen 30 (Kontrolle) Bastard (Albino) Gewicht 3,2 kg	idem	idem
a) Kaninchen 31, männl. Rasse: Blauer Wiener Gewicht 3,6 kg b) 1 ccm Lactoserin Klinisch o. B. Kein Schüttelfrost Blutentnahme nach 3 Std.	1:1 — + 1:2 — 0 1:3 — ++ 1:4 — Spur	1:1 — 0 1:2 — 0 1:3 — + 1:4 — ++ 1:5 — Spur
Kaninchen 32, männl. (Kontrolle) Bastard (grau) Gewicht 2,7 kg	a) 1:5 — Spur	b) 1:5 — Spur

Gruppe V.

	a) Vorversuch	b) Nachversuch
a) Kaninchen 33, männl.	1 : 1 — 0	1 : 1 — 0
Bastard (grau)	1 : 2 — ++	1 : 2 — 0
Gewicht 3,3 kg	1 : 3 — +++	1 : 3 — +
b) 1/2 Million Staphylokokken Vakzine in NaCl	1 : 4 — Spur	1 : 4 — Spur
Klinisch o. B.		
Kein Schüttelfrost		
Blutentnahme nach 3 Std.		
Kaninchen 34 (Kontrolle)	1 : 4 — Spur	1 : 5 — Spur
Bastard (schwarz)		
Gewicht 3,5 kg		

Kaninchen 35 u. 36 1 Million Gonokokken-, und Kaninchen 37 u. 38 1 Million hämolytische Streptokokkenvakzine in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung ergaben genau gleiche Resultate: 1 : 4 — Spur.

a) Kaninchen 39, männl.	1 : 1 — 0	1 : 1 — 0
Bastard (grau)	1 : 2 — +	1 : 2 — 0
Gewicht 3,5 kg	1 : 3 — +++	1 : 3 — ++
b) 1 Milliarde Milchsäurebazillen in	1 : 4 — Spur	1 : 4 — +++
1 ccm NaCl-Lösung iv.		1 : 5 — +++
Nach 30 Min. leichter Schüttelfrost		1 : 6 — Spur
		1 : 8 — „
Futteraufnahme 6 Std. verweigert		
Blutentnahme nach 3 Std.		
Kaninchen 40, weibl.	1 : 1 — 0	1 : 1 — 0
Bastard	1 : 2 — 0	1 : 2 — +
Gewicht 3,5 kg	1 : 3 — +	1 : 3 — +++
Klinisch o. B.	1 : 4 — ++	1 : 4 — Spur
Idem, doch nach 24 Std. Blutentnahme	1 : 5 — +++	
	1 : 6 — Spur	
a) Kaninchen 41, männl.	1 : 1 — 0	1 : 1 — 0
Bastard (grau-weiß)	1 : 2 — +	1 : 2 — ++
Gewicht 3,6 kg	1 : 3 — +++	1 : 3 — +++
b) 5 Milliarden Milchsäurebazillen in	1 : 4 — Spur	1 : 4 — Spur
1 ccm NaCl-Lösung iv.		
Klinisch: 5 Std stark beeinträchtigtes Allgemeinbefinden. Kein Schüttelfrost		
Blutentnahme nach 3 Std.		

Gruppe VI.

	a) Vorversuch	b) Nachversuch
a) Kaninchen 42, männl.	1 : 1 — 0	1 : 1 — 0
Bastard (grau)	1 : 2 — +	1 : 2 — +
Gewicht 3,8 kg	1 : 3 — +++	1 : 3 — +
b) 1 Milliarde von Staphylococcus	1 : 4 — Spur	1 : 4 — ++
albus, lebend von der Kultur in		1 : 5 — ++
1 ccm NaCl-Lösung iv.		1 : 6 — +++
Klinisch o. B.		1 : 8 — Spur
Blutentnahme nach 3 Std.		

Kaninchen 43 (Kontrolle)	**1 : 4 — Spur**	**1 : 6 — Spur**
Bastard (schwarz)		
Gewicht 2,8 kg		
a) Kaninchen 44, weibl.	**1 : 1 — 0**	**idem**
Rasse: Belgischer Riese	**1 : 2 — +**	
Gewicht 4,5 kg	**1 : 3 — ++**	
b) 3 Millionen virulente Gonokokken von der Kultur in 1 ccm NaCl-Lösung	**1 : 4 — Spur**	
Klinisch o. B.		
Blutentnahme nach 2 und 12 Std.		
	Keine Kontrolle	
a) Kaninchen 45, weibl.	**1 : 1 — 0**	**1 : 1 — 0**
Bastard (grau)	**1 : 2 — 0**	**1 : 2 — +**
Gewicht 2,5 kg	**1 : 3 — +**	**1 : 3 — ++**
b) 3 Millionen virulente hämolytische Streptokokken in 1 ccm NaCl-Lösung	**1 : 4 — ++**	**1 : 4 — Spur**
	1 : 5 — Spur	
Klinisch o. B. (!)		
Blutentnahme nach 24 Std.		
	Kontrolle keine	
a) Kaninchen 46, weibl.	**1 : 1 — 0**	**idem**
Rasse: Blauer Wiener	**1 : 2 — 0**	
Gewicht 2,8 kg	**1 : 3 — +**	
b) 2 ccm steriles defibrin. Menschenblut	**1 : 4 — ++**	
	1 : 5 — +++	
Klinisch o. B.	**1 : 6 — Spur**	
Blutentnahme nach 3 Std.		
	Kontrolle keine	
a) Kaninchen 47, weibl.	**1 : 1 — 0**	**1 : 1 — 0**
Rasse: Blauer Wiener	**1 : 2 — +**	**1 : 2 — 0**
Gewicht 4,5 kg	**1 : 3 — ++**	**1 : 3 — 0**
b) 10 ccm Meerschweinchentrockenkomplement 1 : 10	**1 : 4 — Spur**	**1 : 4 — +**
		1 : 5 — ++
Klinisch o. B.		**1 : 6 — +++**
Blutentnahme nach 3 Std.		**1 : 8 — Spur**
Kaninchen 48 (Kontrolle)	**1 : 4 — Spur**	**1 : 10 — Spur**
Bastard (schwarz)		
Gewicht 3,2 kg		
n) Kaninchen 49, weibl.	**1 : 1 — 0**	**1 : 1 — 0**
Bastard (grau)	**1 : 2 — +**	**1 : 2 — +**
Gewicht 4,2 kg	**1 : 3 — ++**	**1 : 3 — +++**
b) 5 ccm Renovasculin iv.	**1 : 4 — +++**	**1 : 4 — Spur**
Klinisch o. B.	**1 : 5 — Spur**	
Blutentnahme nach 2 und 12 Std.		
	Kontrolle keine	
a) Kaninchen 50, männl.	1 : 1 — 0	1 : 1 — 0
Bastard (Albino)	1 : 2 — +	1 : 2 — +
Gewicht 3,0 kg	1 : 3 — +++	1 : 3 — +++
b) 2 ccm gewaschene Hammelblutkörperchen iv.	1 : 4 — +++	1 : 4 — +++
	1 : 5 — Spur	1 : 5 — +++
Klinisch o. B.		1 : 6 — **Spur**
Blutentnahme nach 4 Std.		

Kaninchen 51 (Kontrolle), a) u. b) idem, darauf: nach 12 Std. 5 ccm frisches Meerschweinchenkomplement 1 : 10 **Klinisch o. B.** **Blutentnahme nach 4 Std.**	1 : 1 — 0 1 : 2 — 0 1 : 3 — 0	1 : 4 — + 1 : 5 — + 1 : 6 — + 1 : 8 — ++ 1 : 10 — ++ 1 : 12 — ++ 1 : 16 — +++ 1 : 20 — +++ 1 : 24 — +++ 1 : 32 — Spur
a) Kaninchen 52, weibl. **Bastard (grau)** **Gewicht 3,5 kg** **b) 5 ccm Eigenblut ip.** **Klinisch o. B.** **Blutentnahme nach 3 Std.**	1 : 1 — 0 1 : 2 — + 1 : 3 — ++ 1 : 4 — +++ 1 : 5 — Spur	1 : 1 — 0 1 : 2 — 0 1 : 3 — + 1 : 4 — ++ 1 : 5 — ++ 1 : 6 — +++ 1 : 8 — Spur
Kaninchen 53 **Bastard (Albino)** **Gewicht 3,8 kg** **Blutentnahme nach 6, 12 u. 24 Std.**	1 : 5 — Spur	1 : 8 — Spur
a) Kaninchen 54, weibl. **Bastard (Schecke)** **Gewicht 2,5 kg** **b) 2 ccm verdunsteter alkoholischer Extrakt für die Sachs-Georgi-Reaktion aufgelöst in 1 ccm NaCl-Lösung iv.** **Allgemeinbefinden leicht gestört** **Kein Schüttelfrost** **Blutentnahme nach 3 Std.**	1 : 1 — 0 1 : 2 — 0 1 : 3 — + 1 : 4 — ++ 1 : 5 — +++ 1 : 6 — Spur	1 : 1 — 0 1 : 2 — + 1 : 3 — +++ 1 : 4 — Spur
Kaninchen 55, weibl. (Kontrolle) **Bastard** **Gewicht 2,8 kg**	1 : 1 — 0 1 : 2 — + 1 : 3 — ++ 1 : 4 — Spur	1 : 1 — 0 1 : 2 — +++ 1 : 3 — Spur
a) Kaninchen 56, weibl. **Rasse: Blauer Wiener** **Gewicht 2,0 kg** **b) 0,05 g Cholesterin in 1 ccm NaCl-Lösung iv.** **Einige Stunden Freßunlust** **Blutentnahme nach 24 u. 48 Std.**	1 : 1 — 0 1 : 2 — 0 1 : 3 — + 1 : 4 — ++ 1 : 5 — Spur	1 : 1 — 0 1 : 2 — 0 1 : 3 — 0 1 : 4 — 0 1 : 5 — + 1 : 6 — + 1 : 8 — ++ 1 : 10 — +++ 1 : 12 — Spur
Kaninchen 57, weibl. (Kontrolle) **Bastard** **Gewicht 2,5 kg** **Blutentnahme nach 48 Std.**	1 : 5 — Spur	1 : 12 — Spur

a) Kaninchen 58, weibl.	1:1 — 0	1:1 — 0
Rasse: Blauer Wiener	1:2 — 0	1:2 — ++
Gewicht 3,2 kg	1:3 — +	1:3 — +++
b) 5 ccm ungekochte, nicht sterile	1:4 — ++	1:4 — Spur
Kuhmilch iv.	1:5 — +++	
8stündige hochgradige Depression	1:6 — Spur	
ohne Schüttelfrost		
Blutentnahme nach 4 Std.		
Nach 24 Std.	idem	1:1 — 0
		1:2 — 0
		1:3 — 0
		1:4 — 0
		1:5 — 0
		1:6 — +
		1:8 — +
		1:10 — ++
		1:12 — ++
		1:16 — +++
		1:20 — +++
		1:24 — Spur
Kaninchen 59, weibl. (Kontrolle)	1:20 — Spur	
Bastard		
Gewicht 3,6 kg		
Blutentnahme nach 24 Std.		
Kaninchen 60, männl.	1:1 — 0	**durchgehende Hämolyse**
Bastard (Schecke)	1:2 — 0	
Gewicht 2,7 kg	1:3 — +	
0,015 Cignolin in 5 ccm NaCl-Lösung iv.	1:5 — +++	
Bis 15 Min. post inj. klinisch o. B. (gute Futteraufnahme). Darauf Apathie, zunehmend. Koma, nach 80 Min. p. i. unter Konvulsionen Exitus letalis	1:5 — Spur	
Blut stark hämolytisch		

Ueberblicken wir kritisch die von Gruppe II an gewonnenen Resultate, so finden wir eine auffallende Uebereinstimmung der Komplementhöhen vor und nach der Injektion von Sterilisantia und kolloiden Metallen; auch die unspezifischen Reizkörper in Form von Proteinen vermochten keine Komplementbeeinflussung in eindeutigem Sinne herbeizuführen, bis auf den Kontrollversuch des Tieres 28 (Novoprotininjektion), welcher wohl als technisch fehlerhaft abzulehnen ist.

Aus Gruppe V ist lediglich der Versuch mit der Aufschwemmung abgetöteter Milchsäurebazillen hervorzuheben, welcher scheinbar entgegengesetzte Resultate zeitigt. Tier 39 hat als einziges einen Schüttelfrost; 3 Std. nach diesem ist ein Komplementanstieg um das doppelte zu verzeichnen; 24 Std. post inject. hat ein anderes Tier dagegen ein im Gegensatz zu der Norm erniedrigtes Komplement.

Interessant ist — wie aus Gruppe VI ersichtlich — daß die Kaninchen gegenüber artifiziellen septischen Infektionen sich äußerst resistent erweisen; selbst die Injektion von 3 Millionen hochvirulenter hämolytischer Streptokokken vermochte ihr Allgemeinbefinden kaum wesentlich zu beeinflussen.

Eine deutliche Komplementerhöhung durch Staphylokokkeninfektion ist bei Tier 42 zu bemerken.

Die Injektion von Menschenblut oder frischem Meerschweinchenserum verläuft ohne die geringsten Begleiterscheinungen.

Die Komplementerhöhung bei den Kaninchen 47 und 48 ist nicht als solche aufzufassen, sondern bedeutet ohne Zweifel ein Erhaltenbleiben der Komplementwirkung selbst im fremden Organismus; denn wird 3 Std. nach der Injektion von frischem Komplement in einen fremden Organismus das Blut dieses zu einem Komplementversuch verwendet, so ist ein Komplementüberschuß in dem zu untersuchenden Serum vorhanden, welcher natürlicherweise seinerseits den Ausschlag zu einer höheren Lösung in vitro abgeben muß.

In ähnlicher Weise wird auch wohl der hohe Komplementtiter bei Tier 51 zu bewerten sein.

Eine leichte Erhöhung des Komplementes finden wir wieder nach Eigenblutinjektionen, während eine deutliche Erniedrigung festzustellen ist nach Injektion eines verdunsteten und wieder in NaCl-Lösung gebrachten alkoholischen Sachs-Georgi-Extraktes.

Auffallenderweise zeigt eine Cholesterininjektion Komplementerhöhung, obwohl nach dem vorhergehenden Versuch eine Erniedrigung zu erwarten wäre.

Versuch 58 weist 4 Std. nach der Injektion von Kuhmilch eine anaphylaktische Komplementerniedrigung im Sinne Friedbergers u. Cedernbergs auf, um allerdings 20 Std. später als Gegenreaktion in eine erhebliche Komplementerhöhung umzuschlagen. Kontrollversuche erwiesen die Konstanz dieser eigenartigen Komplementschwankung.

Der letzte Versuch fällt — streng genommen — nicht in den Rahmen der bisherigen Versuche; durch die starke Reduktionswirkung des Cignolins tritt 80 Min. nach der Injektion der Tod durch Methämoglobinbildung ein; der Versuch ist dadurch für eine Komplementbestimmung ungeeignet.

Die Unregelmäßigkeit der erzielten Komplementbeeinflussung durch Agentien derselben Gruppen gestatten uns nicht, Gesetzmäßigkeiten abzuleiten, zumal da einwandfreie theoretische Erklärungen für die gefundenen Ergebnisse vorderhand nicht abgegeben werden können. Trotzdem werden sich wohl auf Grund der erzielten Resultate mancherlei Perspektiven, insbesondere auch in bezug auf eine therapeutische Verwertung, eröffnen.

Die Theorien über das Zustandekommen der Komplementfunktionen und ihrer Beeinflussung sind so mannigfach, sie bewegen sich in scharfen Gegensätzen auf kolloidchemischen, biologischen und elektrochemischen Gebieten, daß ein Eingehen darauf ins Uferlose führen würde.

Aus diesem Grunde beschränke ich mich in der Zusammenfassung — obwohl im Text vereinzelt der Versuch einer Erklärung gemacht worden ist — lediglich auf die experimentellen, objektiven Ergebnisse.

Zusammenfassung.

1) Durch Höhensonnenbestrahlung tritt Komplementerhöhung bei Kaninchen ein. Die Wirkung wird erhöht durch Rasieren der Tiere.

Die Komplementerhöhung ist bedingt durch direkte Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf das Blut, nicht etwa durch Ozoninhalation. Bei zu intensiver Bestrahlung tritt Erniedrigung des Komplementes ein. — 2) Durch intravenöse Injektionen von kolloiden Metallen, Sterilisantia und unspezifischen Proteinkörpern konnte eine Komplementbeeinflussung nicht festgestellt werden. — 3) Dagegen gelang es, den Komplementtiter bei Kaninchen durch andere verschiedenartige Reize deutlich zu beeinflussen.

Meine im Anfang dieser Arbeit aufgestellte Vermutung hat sich trotz der umfangreichen Versuche experimentell in vollem Umfange nicht bestätigen lassen.

Wenn sich auch durchaus positive Resultate ergeben haben, so bin ich mir doch vollauf bewußt, durch die relativ kleine Versuchsmenge der einzelnen Gruppen, die durch den großen Umfang der gesamten Versuchsanordnung bedingt ist, nicht überzeugende Beweise, sondern nur einen Ueberblick gegeben zu haben über die ausgedehnten Möglichkeiten weiterer Forschung auf dem Gebiete der experimentellen Komplementerkenntnis, einen Ueberblick, der seinen Zweck erfüllt, wenn er späteren Nachuntersuchern zur Anregung dient.

Literatur.

1) Bender u. Prausnitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 219. — 2) Bickel, Münch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 15. S. 804. — 3) Bordet u. Gay, Ann. Inst. Past. 1908. Nr. 8. — 4) Breton, Massol u. Minet, Compt. Rend. Soc. Biol. I. 1909. Nr. 34. p. 67. — 5) Brooks, Journ. med. Resenarch. Vol. 41. 1921. p. 411. — 6) Ders., Journ. of Gener. Physiol. Vol. 3. p. 169. — 7) Bruck, Handbuch der Serodiagnose der Syphilis (Springer). 1924. — 8) Busson u. Takahashi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1914. S. 145. — 9) Cori u. Radnitz, Ztschr. f. Immun. Orig. Bd. 29. 1920. S. 445. — 10) Eicke u. Mascher, Ibid. Orig. Bd. 26. H. 6. — 11) v. Fenyvessy u. Freund, Ibid. Orig. Bd. 18. 1913. S. 666. — 12) Fränkel, Ibid. Orig. Bd. 10. 1911. S. 388. — 13) Friedberger u. Cederberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. S. 385. — 14) Griesbach, R., Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 15. — 15) Ders., Hygien.-biol. Abhandlungen (Töpelmann). Gießen. 1925. S. 53. — 16) Gutsche, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1918. S. 14. — 17) Hecht, Ztschr. f. Immun. Orig. Bd. 36. 1923. — 18) Hilgers, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. S. 217. — 19) Kaup, Arch. f. Hyg. Bd, 87, 1917. S. 1—4. — 20) Koopman, Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 9. S. 277. — 21) Lüdke, Münch. med. Wochenschr. 1909. S. 1313. — 22) Shaw, Brit. med. Journ. 1919. Nr. 3056. Vol. 26. 7. — 23) Scheller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1900. S. 120. 24) Thomsen, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 51.

Versuche zur Artdifferenzierung von gekochtem Eiweiss mittels der Präzipitinreaktion.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung — Serologisches Laboratorium — des Reichsgesundheitsamts in Berlin-Dahlem.]

Von **Rahel Rosenberg** aus Charkow (Ukraine).

Ueber die Gewinnung von präzipitierenden Antiseren für praktische Zwecke der Eiweißdifferenzierung mittels Antigen, das durch Kochen nach den Angaben von Fudjiwara und durch Alkoholfällung nach den Angaben von Tsukasaki koaguliert war, haben aus diesem Laboratorium H. Beger sowie P. Manteufel und Y. Tomioka berichtet. Es hatte sich dabei in Bestätigung der Ergebnisse der oben genannten japanischen Autoren gezeigt, daß solche Antisera zusammen mit unkoaguliertem Nativ-Antigen eine ebenso deutliche Präzipitinreaktion gaben, wie die in der üblichen Weise mit Nativ-Antigen gewonnenen Antisera. Gegenüber diesen letzteren zeigten sie dabei insofern einen gewissen Vorteil, als die Neigung zu unspezifischen „heterologen" Trübungen geringer war als bei den mit Nativ-Antigen erzeugten Antiseren. Fudjiwara konnte mittels solcher Antisera sogar die Verwandtschaftsreaktion bei Mensch und Affe ausschalten, was Beger allerdings nicht bestätigen konnte[1]).

Es war nun von Wert, darüber Untersuchungen anzustellen, ob und inwieweit solche mit koaguliertem Antigen hergestellten Antisera bei der Differenzierung von erhitztem Eiweiß, wie es praktisch bei der Untersuchung von gekochten Fleisch- und Wurstwaren nötig werden kann, Vorzug vor den Nativ-Antisera verdienen. W. A. Schmidt hat diese Frage bereits 1912 gründlich bearbeitet und bei der Gelegenheit durch Immunisierung mit bei 70° koaguliertem und dann mittels Natronlauge wieder gelöstem Serum ein „Hitze-Alkalipräzipitin" hergestellt. Dieses Präzipitin reagierte außer mit dem durch Erwärmung auf 70° + Alkalibehandlung veränderten homologen Antigen auf nur erhitztes und nur mit Alkali (ohne Erwärmung) behandeltes Eiweiß, nicht aber auf Nativ-Antigen. Diese Untersuchungen von Schmidt sind, soweit ich übersehe, in der Zwischenzeit noch nicht wiederholt und bestätigt worden. Meine eigenen, im Sommer 1925 im Laboratorium von Herrn Prof. Manteufel ausgeführten Untersuchungen liefern einige Beiträge

1) Demgegenüber ist daran zu erinnern, daß Fornet und Müller bei einem Antiserum, dessen Antigen durch Erwärmen von Pferdefleisch-Preßsaft auf 65° (15 Minuten) gewonnen war, eine stärkere Neigung zu heterogenen Trübungen beobachtet haben wollen. Aus der angezogenen Tabelle ergibt sich allerdings nur ein Uebergreifen auf Schwein und Rind bis zur Verdünnung 1:100.

zu dieser Frage, über die ich unter Hinweis auf eine spätere ausführliche Veröffentlichung in russischer Sprache im folgenden kurz berichte.

Es wurden zunächst 2 Serien zu je 4 Kaninchen in etwa 4tägigen Zwischenräumen mit Hitze-Alkali-Präzipitogen nach Schmidt und mit kochkoaguliertem Präzipitogen nach Fudjiwara immunisiert.

Tabelle I.

Rinderantiserum Nr. 278 nach Schmidt.

Antigen zur Immunisierung: Rinderserum 30 Min. auf 70° erwärmt, mit Normalnatronlauge 15 Min. bei 70° behandelt.

Immunisierung: vom 2. 7. bis 20. 8. 1925. 10mal je 20 ccm des obigen Antigens intraperitoneal.

Untersuchung am 29. 8. 25. Die Erhitzung der Antigene auf 70°, 80°, 90° und 100° erfolgt nach 10facher Verdünnung mit isotonischer Kochsalzlösung.

Antigen		Verdünnung	Reaktion	Zeit
Nativ-Rinderserum		1:100	+	sofort
		1:1000	+	„
		1:10 000	+	„
		1:20 000	+	„
Rinderserum (10fach verdünnt) 30 Min. 80°		1:100	+	„
		1:1000	+	„
		1:10 000	+	5 Min.
		1:20 000	+	15 Min.
„ „ „ 30 „ 90°		1:100	+	sofort
		1:1000	+	„
		1:10 000	+	10 Min.
		1:20 000	+	20 „
„ „ „ 30 „ 100°		1:100	+	1½ Std.
		1:1000	+	1 Std.
		1:10 000	+	1½ Std.
		1:20 000	—	.
Hammelserum „ „ 30 „ 70°		1:100	+	sofort
		1:1000	+	10 Min.
		1:10 000	—	.
Pferdeserum „ „ 30 „ 70°		1:100	—	.
		1:1000	—	.
Schweineserum „ „ 30 „ 70°		1:100	—	.
		1:1000	—	.
Menschenserum „ „ 30 „ 70°		1:100	—	.
		1:1000	—	.
Pulverisiertes Koagulum nach Schmidt: Serum 3 Std. gekocht, Koagulum gewaschen, getrocknet, pulverisiert, in $^{1}/_{10}$ Normal-Natronlauge 15 Min. bei 70° gelöst, mit $^{1}/_{20}$ Normalsalzsäure neutralisiert	von Rind	.	+	10 Min.
	„ Hammel	.	—	.
	„ Schwein	.	—	.
	„ Pferd	.	—	.
	„ Mensch	.	—	.
	„ Meerschwein	.	—	.
Rinderserum unverdünnt 30 Min. 90° mit Normalnatronlauge 15 Min. behandelt und mit Normalsalzsäure neutralisiert		1:10	+	sofort
		1:100	+	„
		1:500	+	„

Kontrollen:

Nativ-Rinderantiserum Nr. 92 reagiert mit Rinderserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70° bis zur Verdünnung 1:1000 (nach 15 Min.), mit Rinderserum 30 Min. 80° nicht mehr.

Nativ-Rinderantiserum Nr. 92 reagiert mit auf 90° erhitztem und mit Normalnatronlauge und Normalsalzsäure behandeltem Rinderserum nicht mehr in einer Verdünnung 1:10.

Tabelle II.

Rinderantiserum Nr. 279 nach Schmidt

Herstellung des Antigens siehe Tabelle I.
Immunisierung: vom 2. 7. bis 25. 8. 1925. 11mal je 20 ccm des Antigens intraperitoneal.
Untersuchung am 5. 9. 25.

Antigen	Verdünnung	Reaktion	Zeit
Nativ-Rinderserum	1:100	+	sofort
	1:1000	+	„
	1:10000	+	„
	1:20000	+	10 Min.
Rinderserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	„
	1:10000	+	10 Min.
	1:20000	+	10 „
„ „ „ 30 „ 80°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	„
	1:10000	+	10 Min.
	1:20000	+	10 „
„ „ „ 30 „ 90°	1:100	+	5 „
	1:1000	+	10 „
	1:10000	+	20 „
	1:20000	+	30 „
„ „ „ 30 „ 100°	1:100	—	.
	1:1000	—	.
	1:10000	—	.
	1:20000	—	.
Hammelserum „ „ 30 „ 70°	1:100	+	10 Min.
	1:1000	±	20 „
	1:10000	—	.
Pferdeserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
	1:1000	—	.
Schweineserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
	1:1000	—	.
Menschenserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
	1:1000	—	.
Pulverisiertes Koagulum nach Schmidt: (siehe Tabelle I) von Rind	.	+	1/½ Std.
„ Hammel	.	—	.
„ Schwein	.	—	.
„ Pferd	.	—	.
„ Mensch	.	—	.
„ Meerschwein	.	—	.
Rinderserum unverdünnt 30 Min. 90° mit Normalnatronlauge 15 Min. behandelt und mit Normalsalzsäure neutralisiert	1:10	+	sofort
	1:100	+	„
	1:500	+	„

Zwecks Herstellung des Schmidt-Antigens werden nach den Angaben dieses Autors 60 ccm Blutserum mit der gleichen Menge isotonischer Kochsalzlösung versetzt und ½ Std. auf dem Wasserbad bei 70° erhitzt. Dann wird 10 ccm Normalnatronlauge zugefügt und abermals 15 Min. auf dem 70°-Wasserbad erwärmt, wobei die vorher zähflüssige trübe Masse wieder flüssig und klar wird. Von diesem alkalischen Antigen habe ich jedem Kaninchen jedesmal 20 ccm intraperitoneal verabfolgt.

Zwecks Herstellung des Fudjiwara-Antigens werden 10 ccm Blutserum mit der 10fachen Menge destillierten Wassers verdünnt, dann fügt man 20 ccm konzentrierte Kochsalzlösung und einige Tropfen 50proz. Essigsäure hinzu und läßt das ausfallende Eiweiß auf dem kochenden Wasserbad oder im Dampftopf koagulieren. Der Niederschlag wird auf einem Papierfilter gesammelt und ergibt nach dem Ablaufen des Tropfwassers eine weiße salbenartige Masse, die unter Toluol aufbewahrt

Tabelle III.

Rinderantiserum Nr. 282 nach Fudjiwara.

Antigen zur Immunisierung: 10 ccm Blutserum mit destilliertem Wasser 10fach verdünnt, dazu 20 ccm gesättigte Kochsalzlösung nebst einigen Tropfen 50proz. Essigsäure. Im Dampftopf koaguliert, durch Papier filtriert und der Rückstand unter Toluol aufbewahrt.

Immunisierung: Ein Teilchen der Masse von Reiskorngröße (0,02 g) wird mit 2,0 ccm isotonischer Kochsalzlösung im Mörser verrieben und die Emulsion vorsichtig intravenös alle 3—4 Tage eingespritzt. Vom 21. 7. bis 12. 8. 10mal behandelt.

Untersuchung am 25. 8. 25.

Antigen	Verdünnung	Reaktion	Zeit
Nativ-Rinderserum	1:1000	+	sofort
	1:10000	+	„
	1:20000	+	„
	1:50000	±	.
Rinderserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	.
	1:1000	+	.
	1:10000	±	.
	1:20000	—	.
„ „ „ 30 „ 80°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	5 Min.
	1:10000	—	.
„ „ „ 30 „ 90°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	10 Min.
	1:10000	—	.
„ „ „ 30 „ 100°	1:100	+	sofort
	1:1000	±	.
	1:10000	—	.
Hammelserum (nativ)	1:100	+	.
	1:1000	—	.
Schweineserum „	1:100	—	.
Menschenserum „	1:100	—	.
Pferdeserum „	1:100	—	.
Hammelserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	5 Min.
	1:1000	+	10 „
Schweineserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Menschenserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Pferdeserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Pulverisiertes Koagulum nach Schmidt: (siehe Tabelle I) von Rind	.	+	30 Min.
„ Hammel	.	—	.
„ Schwein	.	—	.
„ Pferd	.	—	.
„ Mensch	.	—	.
„ Meerschwein	.	—	.
Rinderserum unverdünnt 30 Min. 90° mit Normalnatronlauge 15 Min. behandelt und mit Normalsalzsäure neutralisiert	1:10	+	sofort
	1:100	+	„
	1:500	+	„

wird. Für jede Einspritzung entnimmt man der Masse ein kleines Teilchen von der Größe eines Reiskornes (etwa 0,02 g), verreibt es im Mörser mit 2 ccm isotonischer Kochsalzlösung und spritzt intravenös ein.

Von jeder Serie wurden 2 Tiere mit Rinder- und 2 mit Schweineantigen behandelt. Von den 4 Schweineantigentieren gingen im Laufe der Behandlung 2 zugrunde, und zwar je 1 mit Schmidt- und 1 mit Fudjiwara-Antigen behandeltes. Die übrigen 6 magerten im Laufe der Immunisierung zwar erheblich ab, so daß die Intervalle zwischen

Tabelle IV.

Rinderantiserum Nr. 283 nach Fudjiwara.

Herstellung des Antigens und Immunisierung siehe Tabelle III.
Untersuchung am 25. 8. 25.

Antigen	Verdünnung	Reaktion	Zeit
Nativ-Rinderserum	1:100	+	.
	1:1000	+	.
	1:10000	+	.
	1:20000	+	.
Rinderserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	.
	1:1000	+	.
	1:10000	+	.
	1:20000	±	.
" " " 30 " 80°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	"
	1:10000	—	.
" " " 30 " 90°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	10 Min.
	1:10000	—	.
" " " 30 " 100°	1:100	+	sofort
	1:1000	±	.
	1:10000	—	.
Nativ-Hammelserum	1:100	+	.
	1:1000	—	.
" Ziegenserum	1:100	—	.
" Schweineserum	1:100	—	.
" Menschenserum	1:100	—	.
" Pferdeserum	1:100	—	.
Hammelserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	5 Min.
	1:1000	—	.
Schweineserum " " 30 " 70°	1:100	—	.
Menschenserum " " 30 " 70°	1:100	—	.
Pferdeserum " " 30 " 70°	1:100	—	.
Pulverisiertes Koagulum nach Schmidt: (siehe Tabelle I) von Rind	.	—	.
" " " Hammel	.	—	.
" " " Schwein	.	—	.
" " " Pferd	.	—	.
" " " Mensch	.	—	.
" " " Meerschwein	.	—	.
Rinderserum unverdünnt 30 Min. 90° mit Normalnatronlauge 15 Min. behandelt und mit Normalsalzsäure neutralisiert	1:10	+	sofort
	1:100	+	"
	1:500	+	"

den Einspritzungen öfters verlängert werden mußten, aber die Behandlung führte schließlich bei diesen 6 Tieren zum Ziel. Die Tabellen I VI geben über die Behandlungsweise und das Ergebnis der Untersuchung mit diesen 6 Antiseren genauen Aufschluß.

Was die Technik der Präzipitinreaktion anbetrifft, so wurden grundsätzlich 0,9 ccm Antigen oder Antigenverdünnung mit 0,1 ccm Antiserum unterschichtet und bei Zimmertemperatur beobachtet.

Der Ablauf dieser Reaktion ist bei diesen Antiseren, wie gleich hier bemerkt sei, teilweise erheblich verzögert, so daß man manchmal erst nach 1 Std. eine wohlausgebildete Reaktion erhält. Die Reaktion wurde

Tabelle V.

Schweineantiserum Nr. 276 nach Schmidt.

Antigen zur Immunisierung: Schweineserum 30 Min. auf 70° erwärmt, mit Normalnatronlauge 15 Min. bei 70° behandelt.

Immunisierung: vom 2. 7. bis 29. 8. 11mal je 20 ccm des obigen Antigens intraperitoneal.

Untersuchung am 5. 9.

Antigen	Verdünnung	Reaktion	Zeit
Nativ-Schweineserum	1:100	+	sofort
	1:1000	+	„
	1:10000	+	„
	1:20000	+	10 Min.
Schweineserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	2 Min.
	1:10000	+	20 „
	1:20000	+	30 „
„ „ „ 30 „ 80°	1:100	+	sofort
	1:1000	+	5 Min.
	1:10000	+	30 „
	1:20000	+	40 „
„ „ „ 30 „ 90°	1:100	+	.
	1:1000	±	.
	1:10000	—	.
	1:20000	—	.
„ „ „ 30 „ 100°	1:100	—	.
	1:1000	—	.
Rinderserum „ „ 30 „ 70°	1:100	±	15 Min.
	1:1000	—	.
Hammelserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Pferdeserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Menschenserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Pulverisiertes Koagulum nach Schmidt: (siehe Tabelle I) von Schwein	.	+	30 Min.
„ „ Rind	.	—	.
„ „ Hammel	.	—	.
„ „ Pferd	.	—	.
„ „ Mensch	.	—	.
„ „ Meerschwein	.	—	.

Kontrollen:

Die Reaktion mit Nativ-Schweineantiserum Nr. 274 ergab bei dem 70°-Antigen in der Verdünnung 1:100 keine Trübung mehr.

Pulverisiertes Schweinekoagulum nach Schmidt behandelt ergab mit Nativ-Schweineantiserum Nr. 274 keine Trübung.

außer mit nativem Antigen, mit Serumlösung, die in 10facher Verdünnung bei 70, 80, 90 und 100° $^1/_2$ Std. erhitzt war, und schließlich auch unter den Versuchsbedingungen vorgenommen, die Schmidt das Experimentum crucis nennt.

In diesem Falle wird das zu untersuchende Serum nach der Angabe von Schmidt mit ein wenig isotonischer Kochsalzlösung versetzt und 3 Std. lang im Wasserbad gekocht. Dann wird die benötigte Menge des fest geronnenen Eiweißkoagulums mit isotonischer Kochsalzlösung gründlich abgespült, bei etwa 37° getrocknet und zu Pulver verrieben. Zur Lösung dieses trocknen Pulvers wurde nach den Angaben von Schmidt $^1/_{10}$ Normalnatronlösung in 0,85proz. Kochsalzlösung benutzt, indem man eine Messerspitze des Trockenpulvers mit 10 ccm dieser Lösung durchschüttelt und auf einem Wasserbade von 70° 10 Min. erwärmt. Nach Ablauf dieser Zeit wird das in Lösung

Tabelle VI.

Schweineantiserum Nr. 281 nach Fudjiwara.

Herstellung des Antigens und Art der Immunisierung siehe Tabelle III.
Behandelt vom 21. 7. bis 5. 9. 15mal.
Untersuchung am 14. 9.

Antigen	Verdünnung	Reaktion	Zeit
Nativ-Schweineserum	1:100	+	sofort
	1:1000	+	„
	1:10 000	+	5 Min.
	1:20 000	+	10 „
	1:50 000	±	.
Schweineserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	+	.
	1:1000	+	.
	1:10 000	+	5 Min.
	1:20 000	+	10 „
„ „ „ 30 „ 80°	1:100	+	.
	1:1000	+	.
	1:10 000	+	15 Min.
„ „ „ 30 „ 90°	1:100	+	.
	1:1000	+	.
	1:10 000	+	20 Min.
„ „ „ 30 „ 100°	1:100	±	.
	1:1000	±	.
	1:10 000	—	.
Nativ-Pferdeserum	1:100	±	.
	1:1000	±	.
„ Rinderserum	1:100	—	.
„ Hammelserum	1:100	—	.
„ Menschenserum	1:100	—	.
Pferdeserum (10fach verdünnt) 30 Min. 70°	1:100	—	.
Rinderserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Hammelserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Menschenserum „ „ 30 „ 70°	1:100	—	.
Pulverisiertes Koagulum nach Schmidt: (siehe Tabelle I) von Schwein	.	+	30 Min.
„ Rind	.	—	.
„ Pferd	.	—	.
„ Mensch	.	—	.

Kontrolle:

Die Reaktion mit Nativ-Antiserum ergab bei dem 70°-Schweineantigen nur noch in der Verdünnung 1:100 eine Trübung.

gegangene Eiweiß in ein Kölbchen mit 10 ccm isotonischer Kochsalzlösung gegossen, durch Papier filtriert und schließlich mit Phenolphtalein als Indikator mittels $^1/_{20}$ Normal-Salzsäure auf schwach rot neutralisiert. Wieviel Eiweiß bei diesem Verfahren jedesmal in Lösung geht, läßt sich nicht genau feststellen, da die Kochprobe hier versagt, aber man kann jedenfalls beim Schütteln in der Regel eine ebenso deutliche Schaumbildung erzielen, wie sie nach den Angaben von Uhlenhuth bei 1000-fachen Serumverdünnungen zu beobachten ist.

Aus den Ergebnissen der Tabellen ergibt sich zusammengefaßt, daß Nativ-Präzipitin schon bei dem $^1/_2$ Std. auf 80° erwärmten Serumantigen nicht mehr anzeigt; dagegen gibt das mittels des Schmidt-Antigens hergestellte Antiserum bei Benutzung des homologen Eiweißes sowohl mit Nativ-Antigen als auch mit 70-, 80-, 90- und 100-Grad-Antigen (im letzten Falle aller-

dings nicht regelmäßig und erst nach 1 Std.) und sogar mit dem 3 Std. gekochten und unter den Versuchsbedingungen des Experimentum crucis gelösten Alkalieiweiß eine deutliche und spezifische Reaktion. **Durch diese Versuche sind mithin die Ergebnisse von Schmidt bestätigt bis auf die eine Abweichung, daß die 70-Grad-Alkali-Präzipitine auch auf natives Eiweiß wirken können, was bei meinen Versuchen regelmäßig der Fall war.**

Auch bei Verwendung der mit Fudjiwara-Antigen erzielten Immunsera zeigt sich, daß sie nicht nur auf Nativeiweiß wirken, was bereits bekannt war, sondern auch auf erhitzte Eiweißlösungen und auf Alkali-Antigen, im letzteren Falle sogar unter den Versuchsbedingungen des Experimentum crucis nach Schmidt.

Was die Spezifität der nach Schmidt und nach Fudjiwara hergestellten Antisera anlangt, so ist sie gegenüber Nativ-Eiweiß mindestens nicht geringer als die der mit Nativ-Antigen erhaltenen Antisera. **Eine regelmäßig und praktisch verwertbare Einengung der Verwandtschaftsreaktion macht sich dagegen leider nicht immer bemerkbar.** In dieser Beziehung hat bereits Beger die günstigen Ergebnisse Fudjiwaras (Möglichkeit der Differenzierung von Menschen- und Affeneiweiß) nicht bestätigen können. Dagegen erscheint mir die Artspezifität gegenüber dem erhitzten und gegenüber dem mit Alkali in der Wärme behandelten Antigen erheblich schärfer ausgeprägt, und das tritt bei den Versuchsbedingungen des Experimentum crucis nach Schmidt am deutlichsten in die Erscheinung.

Es ist mithin bisher festgestellt, daß eine praktische Verwertung dieser nach Schmidt und Fudjiwara hergestellten Antisera bei der Untersuchung von erhitztem Eiweiß (Fleisch und Wurst) bessere Ergebnisse liefern müßte als die Benutzung von Antiseren, die mit Nativ-Antigen gewonnen sind, da sie nicht nur mit Nativ-Antigen, sondern auch mit stark erhitztem und mit Alkali behandeltem Eiweiß anzeigen. Ausschlaggebend für die praktische Verwertung dieses Vorteils ist die Möglichkeit der Herstellung eines für die Reaktion brauchbaren Auszuges aus solchem erhitzten Untersuchungsmaterial.

Zwecks Erprobung des optimalen Lösungsmittels für solche Auszüge habe ich eine ganze Reihe von Versuchen angestellt und dabei destilliertes Wasser und isotonische Kochsalzlösung, beide auch unter Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure verwendet. Die Zugabe eines Antiseptikums ist in diesem Falle deshalb notwendig, damit man das Untersuchungsmaterial möglichst lange und zwar mehrere Tage lang, ausziehen kann, um genügend Eiweiß in Lösung zu bekommen.

Unter Verzicht auf die Wiedergabe dieser zahlreichen Versuche sei hier nur das Ergebnis festgestellt, daß sich mir die Karbolkochsalzlösung zum Herstellen von Auszügen aus gekochten Fleisch- und Wurstwaren besser als Karbolwasser bewährt hat. In einer Reihe von Versuchen wurden nun vergleichsweise Wurstwaren mit Karbolkochsalzlösung ausgelaugt und einerseits mit Nativ-Antiserum, andererseits mit den oben erwähnten Antiseren nach Schmidt und Fudjiwara untersucht. Diese Prü-

fungen erstrecken sich auf 15 aus Berliner Geschäften bezogene Wurstproben und 21 Proben aus Charkow, die ich in getrocknetem Zustande mitgebracht hatte. Bei den Berliner Proben war mittels der Schmidt- und Fudjiwara-Antiseren eine einwandfreie Diagnose in allen 15 Fällen, mit Nativ-Antiserum aber nur in 7 Fällen möglich. Bei den Charkower Wurstpulvern versagten die Nativpräzipitine 18mal, die anderen 12mal.

Ungeachtet der erheblichen Ueberlegenheit der Schmidt- und Fudjiwara-Antisera ergibt sich mithin aus diesen Untersuchungen, daß auch mit dieser Methodik eine Artdiagnose von Fleisch und Wurst nicht immer möglich ist. Den Grund dafür hat man wohl mit Schmidt darin zu suchen, daß die Auslaugung der Antigene mit Karbolkochsalzlösung, und mit wäßrigen Lösungsmitteln überhaupt, zu wenig Eiweiß in Reaktion gehen läßt. W. A. Schmidt verfährt in solchen Fällen, d. h. wenn die Untersuchung des wäßrigen Auszuges kein Ergebnis liefert, so, daß er das Eiweiß des Untersuchungsmaterials nach dem Verfahren, wie es bei der Darstellung des Antigens für sein Experimentum crucis angegeben ist (s. o. S. 264), mit Natronlauge in Lösung bringt. Mit anderen Worten: Man nehme das durchgekochte Untersuchungsmaterial, z. B. stark gekochte Wurst, zerkleinere die Masse, behandle mit Natronlauge, filtriere durch Papier, neutralisiere und stelle die Präpipitinreaktion dann mit diesem Laugenextrakt und einem Hitze-Alkali-Präzipitinserum an. Bei dieser Extraktgewinnung erhielt ich jedoch derart trübe Lösungen, daß es nicht möglich war, mit denselben zu arbeiten. Daher nahm ich vor der Auslaugung eine Entfettung des Produktes vor, in der Annahme, daß Fett in der Wärme mit Natronlauge reagiert und deshalb eine Trübung durch Ausfallen der entsprechenden fettsauren Salze erzeugt.

Die Entfettung nahm ich mit Chloroform vor, und zwar durch länger dauerndes Durchschütteln, bis der Chloroformabguß auf Filtrierpapier keinen Fettfleck mehr gibt.

Mit derart entfetteten Eiweißprodukten gelang es, durchsichtigere und für die Arbeit einigermaßen taugliche Extrakte zu erlangen. Selbstverständlich ist es keinesfalls zu empfehlen, diese Auszüge durch keimdichte Filter durchzulassen, um ihren relativ geringen Eiweißgehalt nicht noch mehr zu vermindern.

Nunmehr stellte ich unter den Bedingungen der Praxis eine Anzahl von Versuchen an. Zuerst machte ich den Versuch mit einem sog. Wiener Würstchen, das ich in einem Topf 30 Min. bei 100° abkochte. Danach wurde die Wurstmasse mit Chloroform entfettet und ein Laugenextrakt nach der Methode von Schmidt hergestellt: beim Präzipitationsversuch mit den Antiseren Nr. 278 und 276 (Schmidt-Antisera) erhielt ich positive Resultate. Danach wurde eine Reihe von Versuchen mit 10 Min., 20 Min. und 30 Min. lang gekochten Würstchen unternommen, und ebenfalls gelang es, wenn auch nicht ganz regelmäßig mit jedem Extrakt, positive Resultate zu erzielen. U. a. ergab sich auch ein positives Resultat mit einer nach Schmidt verarbeiteten Zungenwurst, und zwar in diesem Falle nur mit den Schmidt-Antiseren, nicht aber mit Nativ- und Fudjiwara-Antisera.

Dann wandte ich ein Abkochen der zerkleinerten Wurstmasse im Reagenzglase an: während des Kochens bildete

sich im Reagenzglas eine konzentrierte Fleischbrühe, die beim Erkalten eine gelatineartige Masse ergab. Die mechanische Entfernung der Fettauflage von der gelatineartigen Fleischbrühe bot keine Schwierigkeiten. Dann wurde die letztere in diesem entfetteten Zustande einer Laugenbearbeitung nach Schmidt unterworfen. Dabei verfuhr ich abweichend von den Angaben Schmidts so, daß ich die mit Lauge erwärmte und gelöste Gelatinemasse im Reagenzglase unmittelbar aus dem Wasserbad zum Abkühlen in kaltes Wasser stellte, um dadurch, nach der Forderung von Schmidt, eine weitergehende und etwa zu starke Laugenwirkung auf das Eiweiß zu verhindern.

Das auf diese Weise zubereitete Extrakt war meist durchsichtig und zur Untersuchung geeigneter, als das bei der Bearbeitung der Fleischmasse selbst gewonnene.

Bei systematischer Untersuchung der Fleischbrühe von verschieden lange gekochten Würstchen kam ich zu dem Ergebnis, daß, je länger das Würstchen gekocht wird, um so mehr Eiweiß in die Abkochung übergeht; denn frühestens erst nach einstündigem Kochen erhält man

Tabelle VII.

Untersuchung von konzentrierter Wurstbrühe mit verschiedenen Antiseren.

Antiserum	Antigen	Ergebnis
Rinder-Antiserum Nr. 278 nach Schmidt	Würstchenbrühe nach 20 Min. Kochen	—
" " " 282 " Fudjiwara	" " 20 " "	—
" " " 92 nativ	" " 20 " "	—
Schweine- " " 276 nach Schmidt	" " 20 " "	—
" " " 281 " Fudjiwara	" " 20 " "	—
" " " 274 nativ	" " 20 " "	—
Rinder- " " 278	" " 30 " "	—
" " " 282	" " 30 " "	—
" " " 92	" " 30 " "	—
Schweine- " " 276	" " 30 " "	—
" " " 281	" " 30 " "	—
" " " 274	" " 30 " "	—
Rinder- " " 278	" " 60 " "	+
" " " 282	" " 60 " "	—
" " " 92	" " 60 " "	—
Schweine- " " 276	" " 60 " "	+
" " " 281	" " 60 " "	—
" " " 274	" " 60 " "	—
Rinder- " " 278	" " 120 " "	+
" " " 282	" " 120 " "	±
" " " 92	" " 120 " "	—
Schweine- " " 276	" " 120 " "	+
" " " 281	" " 120 " "	±
" " " 274	" " 120 " "	—
Rinder- " " 278	" " 180 " "	+
" " " 282	" " 180 " "	—
" " " 92	" " 180 " "	—
Schweine- " " 276	" " 180 " "	+
" " " 281	" " 180 " "	—
" " " 274	" " 180 " "	—

brauchbare positive Resultate in der Brühe, und diese bessern sich mit der Kochdauer mehr und mehr (bis zu 3 Std.[1]) (Tab. VII). (S. 268.)

Ein ebensolcher Versuch, Fleisch im Reagenzglase abzukochen, mit darauffolgender Untersuchung der nach Schmidt aufgeschlossenen Brühe, ergab dieselben Resultate (Tab. VIII). Danach wurde der Ver-

Tabelle VIII.

Untersuchung von konzentrierter Rindfleischbrühe mit Rinderantiserum Nr. 278 nach Schmidt und Nr. 283 nach Fudjiwara.

Das Antigen zum Versuch (durch Kochen im Reagensglas erhaltene Brühe) wurde vom Fett getrennt, nach Schmidt behandelt und neutralisiert. In den letzten 4 Versuchen wurde nicht die ganze Brühe, sondern nur der Bodensatz nach scharfem Zentrifugieren der Behandlung nach Schmidt unterzogen.

Antiserum	Antigen	Ergebnis
Nr. 278	Brühe nach 10 Min. Kochen im Wasserbad	±
dgl.	„ „ 20 „ „ „ „	—
„	„ „ 30 „ „ „ „	—
„	„ „ 60 „ „ „ „	+
„	„ „ 120 „ „ „ „	+
„	„ „ 180 „ „ „ „	+
„	„ „ 30 „ „ „ Autoklav	+
„	„ „ 360 „ „ „ „ konz.	+ sofort
Nr. 283	„ „ 360 „ „ „ „ „	+ „
„ 278	„ „ 360 „ „ „ „ 1:10	—
„ 283	„ „ 360 „ „ „ „ 1:10	—

Kontrollen:

Nativ-Rinderantiserum Nr. 92 ergab in allen Fällen eine negative Präzipitinreaktion.

such mit 6 Std. lang gekochten Würstchen und Fleisch angesetzt. Dabei ergab die Präzipitinreaktion in der Brühe sofort einen deutlich ausgeprägten Ring. Bei Untersuchung einer Fleischbrühe, die 30 Min. lang im Autoklaven bei 2 Atmosphären Druck der Hitze ausgesetzt war, bildete sich ebenfalls ein Präzipitationsring.

Darauf dehnte ich meine Untersuchungen auf Suppenfleisch aus und versuchte zuerst aus bereits 3 Std. gekochtem Suppenfleisch, nachdem es zerkleinert war, bei weiterem Kochen im Reagenzglase eine eiweißhaltige Brühe zu gewinnen. Kein Ergebnis.

Dann wurde auf die zerkleinerten Teilchen des Suppenfleisches ein wenig Suppenflüssigkeit getan und das Fleisch nunmehr im Reagenzglas noch 1 Std. lang auf dem Wasserbad durchgekocht. Danach wurde die Brühe abgegossen, die Fettschicht entfernt und die entfettete Brühe der Bearbeitung nach Schmidt unterworfen. Es ergab sich nur eine ± Reaktion.

In einem weiteren Versuch wurde die Brühe des 3 Std. lang gekochten Fleisches scharf zentrifugiert und der Bodensatz nach Schmidt

---

1) Hier darf ich daran erinnern, daß Fornet und Müller in der Randzone von Kochwürsten, die an sich frei von Pferdefleisch, aber in Pferdefleischdarm gefüllt waren, eine Präzipitinreaktion auf Pferdeeiweiß erhalten haben.

bearbeitet; dabei ergab sich aber ein so trübes Extrakt, daß eine Ablesung der Reaktion nicht möglich war. Dann wurde das Suppenfleisch zerkleinert, mit einer kleinen Menge Suppenflüssigkeit vermischt und 30 Min. lang der Wirkung des Autoklaven bei 2 Atmosphären Ueberdruck unterworfen. Es gelang zwar, dadurch einen durchsichtigen Extrakt zu gewinnen, aber bei Anstellung der Präzipitinreaktion trat nur eine praktisch nicht verwertbare undeutliche Ausfällung ein.

In den letzten Tagen meiner Tätigkeit ist es mir schließlich gelungen, eine biologische Eiweißdiagnose bei Suppenfleisch dadurch zu erzielen, daß ich frisches Fleisch mit kaltem Wasser ansetzte, 3 Std. kochen ließ und die abgegossene Brühe zentrifugierte. Der Bodensatz, nach Schmidt behandelt und mit Normal-Salzsäure neutralisiert, ergab sowohl mit Fudjiwara- als auch mit Schmidt-Antiserum, aber nicht mit Nativantiserum eine sofortige Präzipitinreaktion. Daraus ergibt sich die praktisch wichtige Folgerung, daß eine Artdiagnose von Suppenfleisch dann möglich ist, wenn man die zugehörige Fleischbrühe zur Untersuchung bekommen kann und die Reaktion mit dieser anstellt.

Beim Zusammenfassen aller Ergebnisse der Arbeit komme ich zu dem Schluß, daß das Problem der Artdiagnostik von gekochtem Eiweiß sich auf dem Wege zu seiner Lösung befindet, und daß mit Hilfe spezifischer Hitze- oder Hitzealkalipräzipitine das Uhlenhuthsche Verfahren auch für die Eiweißdifferenzierung von hocherhitzten Fleisch- und Wurstwaren nutzbar gemacht werden kann.

Zum Schluß füge ich noch die Bemerkung hinzu, daß mir die Artdifferenzierung von gekochtem Eiweiß unter Benutzung der Schmidt- und Fudjiwara-Antisera weder im Komplementbindungsverfahren noch im passiven Anaphylaxieversuch praktisch verwertbare Ergebnisse geliefert hat.

Zusammenfassung.

1) Es konnten frühere Versuche aus diesem Laboratorium bestätigt werden, daß man durch Immunisierung mit kochkoaguliertem Blutserum nach dem Verfahren von Fudjiwara artspezifische Präzipitine zur Artbestimmung von Nativeiweiß erzeugen kann. — 2) Diese Präzipitine nach Fudjiwara liefern auch mit erhitztem (10fach verdünnt) Blutserum und mit kochkoaguliertem, pulverisierten Eiweiß, das mittels Natronlauge nach dem Verfahren von W. A. Schmidt wieder in Lösung gebracht ist, artspezifische Präzipitate. — 3) Auch durch Immunisierung mit erhitztem (70°) und dann durch Natronlauge wieder in Lösung gebrachtem Blutserum nach dem Verfahren von W. A. Schmidt (Hitze-Alkalipräzipitogen) kann man hochwertige artspezifische Präzipitine erzeugen. — 4) Diese Antisera nach Schmidt

geben, ähnlich wie die Antisera nach Fudjiwara, nicht nur mit Hitzepräzipitogen und Hitze-Alkalipräzipitogen, sondern auch (abweichend von den Befunden Schmidts) mit Nativeiweiß artspezifische Präzipitate. — 5) Die aus den obigen Ergebnissen gezogene Schlußfolgerung, daß solche Antisera nach Schmidt und nach Fudjiwara bei der Untersuchung von gekochten Wurst- und Fleischwaren bessere Ergebnisse liefern müßten als mit Nativantigen gewonnene Antisera, wurde durch Untersuchung einer Reihe von Berliner Wurstproben und aus Charkow mitgebrachter Wurstpulver bestätigt: Während eine Diagnose bei 15 Berliner Wurstproben mit Nativpräzipitin nur 7mal und mit den beiden anderen Präzipitinen in allen Fällen gelang, war das bei den 21 Charkower Wurstpulvern nur 3- bzw. 9mal der Fall. — 6) Bei den obigen praktischen Wurstuntersuchungen wurde das Untersuchungsmaterial mehrere Tage lang in 0,85proz. Kochsalzlösung mit $^1/_2$ Proz. Karbolzusatz ausgelaugt. Es ist anzunehmen, daß bei den Charkower Wurstpulvern eine ungenügende Menge artspezifischen Eiweißes in dieses Lösungsmittel übergegangen ist. — 7) W. A. Schmidt empfiehlt deshalb, bei Untersuchung von gekochten Wurst- und Fleischwaren das Antigen nicht mit Wasser, sondern mit Natronlauge in Lösung zu bringen und mittels seiner Hitze-Alkalipräzipitine zu untersuchen. — 8) Das ist nach meinen Untersuchungen bei stark gekochtem Fleisch und gekochten Wiener Würstchen in der Tat möglich und gelingt auch bei der Untersuchung mit Antiseren nach Fudjiwara. Nur bei lange (beispielsweise 3 Std.) ausgekochtem Suppenfleisch ist auch auf diese Weise mit dem Fleisch als Antigen keine Präzipitinreaktion mehr zu erhalten. — 9) Bei der Herstellung dieser Antigene aus gekochter Wurst nach den Angaben von Schmidt ist es oft nicht möglich, klare, zur Untersuchung geeignete Extrakte zu erhalten, da man die Filtration durch enge keimdichte Filter wegen der Verminderung des an sich geringen Eiweißgehaltes nicht anwenden kann. Ich habe deswegen das Untersuchungsmaterial versuchsweise zuerst mittels Chloroformausschüttelung entfettet und dann geeignetere Laugenextrakte erhalten. — 10) Besser als die Extraktbereitung nach Schmidt hat sich mir folgendes Verfahren bewährt: Man kocht das Untersuchungsmaterial (Fleisch oder Wurst) in zerkleinertem Zustande unter Zugabe von kaltem Wasser etwa 3 Std. lang im Reagenzglase. Die entstandene konzentrierte Brühe wird über Nacht auf Eis gestellt (Wurstbrühe gelatiniert dabei meistens), wobei sich das Fett oben absetzt. Letzteres wird dann von der Brühe mechanisch getrennt. Nunmehr wird die fettfreie Brühe oder das Zentrifugat derselben mit Natronlauge unter Erwärmung im Wasserbad gelöst, durch Papier filtriert und endlich mit Normalsalzsäure auf schwach rot neutralisiert. Damit ist das Antigen für die Untersuchung fertig. — 11)

In der obigen Weise läßt sich auch bei völlig ausgekochtem Suppenfleisch mittels Schmidt-Antiserums eine Artdiagnose durchführen, wenn man außer dem Fleisch auch die zugehörige Fleischbrühe zur Untersuchung beschaffen kann.

Literatur.

Fudjiwara, K., Dtsch. Ztschr. f. d. ges. gerichtl. Med. Bd. 1. 1922. S. 562. – Hüne, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 28. — Schmidt, W. A., Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 13. 1912. S. 166. — Fornet, F., u. Müller, M., Ztschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. S. 215. — Manteufel, P., u. Tomioka, Y., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 317. — Beger, H., Ibid. Bd. 91. 1924. S. 519. — Tsukasaki, R., Tohoku Journ. exp. Med. Vol. 3. 1922. p. 653.

Aufnahmebedingungen für das Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Die Manuskripte müssen **druckfertig** eingesandt werden. Notwendig werdende Umarbeitungen und Korrekturen können auf Wunsch durch die Redaktion gegen entsprechende Vergütung besorgt werden.

Arbeiten, welche den Umfang von $2^1/_2$ bis 3 Druckbogen überschreiten, müssen vorläufig von der Aufnahme ausgeschlossen werden, falls die Verff. die Herstellungskosten für den obige Bogenzahl übersteigenden Text nicht zu tragen bereit sind. Auch können **Tafeln, Textfiguren, Kurven, Tabellen usw.** nur in beschränkter Anzahl beigegeben werden. Weitergehende Wünsche können nur Berücksichtigung finden, wenn die über das vorgesehene Maß hinausgehenden Herstellungskosten von den Verfassern getragen werden. Für **zurückverlangte Manuskripte** ist das zur Rücksendung nötige Porto an die Redaktion vorher einzusenden.

Inhalt.

Aoki, K., u. **Sakai, Kikuo,** Bakteriologische Untersuchung bei Ausbruch einer Nahrungsmittelvergiftung in einer Seidenspinnerei, S. 145.

—, Agglutinatorische Einteilung von Pyocyaneus-Bazillen, welche bei verschiedenen Menschenerkrankungen nachgewiesen wurden, S. 186.

Beniasch, M. G., u. **Fraenkel, G. M.,** Versuch der Anordnung der WaR. nach der Methode von Kaup, nebst praktischen Anweisungen für Massenanwendung derselben, S. 177.

Demnitz, Albert, Ein Beitrag zur Rolle des B. proteus bei bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen, S. 141.

Fessler, Alfred, Filtrationsversuche an Tuberkelbazillen, S. 148.

Goerttler, V., Kritische Prüfung der bakteriologischen Merkmale des Bact. pyosepticum viscosum equi. Mit 8 Abbildungen im Text, S. 227.

Haase, Werner, Ueber Allgemeininfektion bei Gonorrhöe mit zwei klinisch und autoptisch beobachteten Fällen, S. 163.

Hayashi, T., Ueber einen neuen Paratyphusstamm (Sasaki-Stamm), S. 129.

Horowitz-Wlassowa, L., Ueber die Komplementablenkungsreaktion bei der Tollwut, S. 216.

Quast, Gerhard, u. **Licht, Hans,** Ein Beitrag zur Frage des Entstehens der postvakzinellen Lähmungen bei Lyssa, S. 211.

Rauch, Georg, Ueber den Einfluß verschiedener Reize auf den Komplementtiter bei Kaninchen, S. 246.

Rosenberg, Rahel, Versuche zur Artdifferenzierung von gekochtem Eiweiß mittels der Präzipitinreaktion, S. 259.

Tanner, Fred W., and **Twohey, Helen B.,** Action of Heat on Botulinus Toxin in Canned Foods, S. 136.

Vas, Bernhard, Ueber das Vorkommen von Scharlachstreptokokken in der Luft, S. 159.

Worms, Werner, Vergleichende experimentelle Untersuchungen mit dem Erreger der Rattenbißkrankheit und der Mäusespirille. Mit 4 Abbildungen im Text, S. 195.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5402

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 98. Heft 5|6.

Ausgegeben am 5. Mai 1926.

Nachdruck verboten.

Ueber die agglutinatorische Analyse von Bakterien.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki.)]

Von Prof. Dr. **K. Aoki.**

Die Schwierigkeit der Bakteriendifferenzierung durch Agglutinationsreaktion liegt darin, daß Bakterien, welche anfangs als aus einer Art bestehend angenommen wurden, in der Tat aus verschiedenen Unterarten oder Varianten bestehen, welche gegenseitig nahe verwandt sind. Bei diesen Bakterien treten Haupt- und Mitagglutination so verwickelt auf, daß es schwer ist, zu erkennen, ob die dabei auftretende Agglutination die Haupt- oder die Mitagglutination darstellt. Dieses Verhalten zeigen viele Bakterien. Darunter sind besonders hervorzuheben Dysenterie-, Paratyphus B-, Proteus-, Prodigiosus- und Pyocyaneus-Bazillen. Hier muß kurz bemerkt werden, daß man unter Paratyphus B-Bazillen diejenigen Bazillen versteht, welche gewöhnlich Paratyphus B-Gruppe genannt werden. Ferner sind noch andere Bakterien bekannt, welche biologisch gegenseitig als differenziert angenommen werden, doch agglutinatorisch sich so nahe stehen, daß man sie durch diese Reaktion kaum unterscheiden kann. Zu diesen Bakterien gehören Typhus- und Hühnertyphusbazillen; Paratyphus A- und sogenannte Paratyphus A-ähnliche Bazillen, sowie Hogcholera- und Paratyphus A-ähnliche Bazillen. Infolgedessen behauptete man einerseits, daß die Agglutination bei gewissen Bakterien unspezifisch eintreten kann (Rimpau), strebte aber andererseits danach, eine Methode zu finden, wodurch man die Hauptagglutination von der Mitagglutination unterscheiden kann, wie es schon Castellani gelungen war. Pautau behauptete auch in seiner Monographie, daß man, um einen deutlicheren Unterschied zwischen der Haupt- und Mitagglutination zu bekommen, Sera herstellen muß, welche möglichst starke Hauptagglutination zeigen. Wenn es auch neuerdings Weil in genialer Weise gelungen ist, agglutinatorische Rezeptoren qualitativ zu analysieren, so weiß man doch noch nicht, ob dadurch Haupt- und Mitagglutination differenziert werden können.

Die Besonderheit der Antigene soll nach Pick darin liegen, daß als Antigen wirkende Substanzen einerseits eine bestimmte komplizierte molekulare Konfiguration haben und andererseits in einem bestimmten kolloidalen Verhältnis gemengt sind. Einen ähnlichen Gedanken hatte auch schon Durham, daß nämlich die agglutinatorischen Substanzen der Bakterien nicht einheitlich sind, sondern aus zahlreichen Komponenten bestehen. Infolgedessen müssen Sera, welche mit bestimmten Bakterien hergestellt worden waren, ebenso bestimmt, jedoch entweder kompliziert gebaut oder aus verschiedenen Komponenten zusammengesetzt sein. Falls Bakterien dabei entweder nahe verwandte Struktur zeigen, oder gemeinsame Komponenten haben, so müssen sie in denselben

Sera mitagglutinieren. Unter diesen Voraussetzungen scheint es schwer zu sein, Bakterien durch eine Methode zu bestimmen, nach der die betreffenden Bakterien in einem bestimmten Serum agglutiniert werden, um zu erkennen, ob sie darin bis zum Titer reagieren oder nicht, weil die Bakterien und Sera zu kompliziert gebaut sind, als daß sie durch obige einfache Methode bestimmt werden könnten. Deshalb muß zuerst dieser komplizierte Bau der Bakterien und Immunsera in den verschiedenen Komponenten analysiert werden. Man muß nämlich die komplizierten agglutinatorischen Beziehungen der einzelnen Bakterienstämme verschiedenen Sera gegenüber auseinandersetzen. Nach diesem agglutinatorischen .Verhalten, welches dabei als ein bestimmtes Gesetz zum Vorschein kommt, kann man erst Bakterien exakt bestimmen. Diese agglutinatorische Beziehung wird dabei hauptsächlich immer noch quantitativ dargestellt, weil man noch nicht in der Lage ist, die agglutinatorische Besonderheit der Bakterien qualitativ zu bestimmen.

Wie kann man diesen Zweck erreichen? Ich meine, daß man es dadurch kann, daß agglutinatorisch reine Stämme von Bakterien und dazu ihnen entsprechende reine und fest bestimmte Sera hergestellt werden. Zu diesem Zweck wurden zuerst Bakterien durch Zerlegung in Kolonien gereinigt. Mit diesen Stämmen wurden ihnen entsprechende Sera möglichst schnell hergestellt. In diesen Seris wurden sie wieder geprüft und agglutinatorisch rein gehalten. Mit diesen agglutinatorisch reinen Stämmen wurden weiter reine Sera hergestellt, mit denen nun ihnen entsprechende Stämme kreuzweise agglutinatorisch untersucht wurden. Die Stämme, welche sich dabei agglutinatorisch gleich verhielten, wurden als gleichartig angesehen und an einer Stelle zusammengestellt. Ferner wurde untersucht, ob die dabei entweder als gleichartig oder als differenziert angesehenen Stämme sich immer so gegeneinander verhalten, weil wir manchmal solche Fälle erlebt haben, wo zwei Stämme von Bakterien einmal als gegenseitig differenziert, ein andermal als nahe verwandt erschienen. Umgekehrt zeigte, wenn auch die beiden Sera mit demselben Stamme hergestellt waren, doch das eine Serum eine ganz andere mitagglutinatorische Beziehung, als das andere, was schon viele Forscher beobachtet haben. Um dieses Verhalten genau festzustellen, wurde ein neues Verfahren von mir festgestellt. Dieses besteht darin, daß Tiere mit den betreffenden Stämmen lange Zeit wiederholt immunisiert, sozusagen überimmunisiert werden. Während dieser Immunisierung wird sowohl die homologe als auch die heterologe Agglutination bei diesen Tieren mehrmals geprüft. Der dabei auftretende agglutinatorische Titer der heterologen Bakterien wird mit dem ebenfalls dabei auftretenden agglutinatorischen Titer der homologen Bakterien dividiert. Auf diese Weise konnte ich die Beziehungen zwischen den geprüften Bakterien ganz exakt feststellen. Dabei ergaben sich die folgenden 3 Fälle:

1. Der Wert des Bruches bleibt während der ganzen Immunisierung immer ebenso oder fast ebenso groß wie $^1/_1$. Das bedeutet, daß die beiden Bakterien identisch sind. — 2. Er neigt im Anfang der Immunisierung dazu, sich der Größe von $^1/_1$ zu nähern, wird jedoch in der Mitte immer kleiner als $^1/_1$ und nähert sich an ihrem Ende wieder $^1/_1$. Das bedeutet, daß die beiden zwar nicht identisch sind, aber eine gewisse Verwandtschaft haben. — 3. Er bleibt während der ganzen Immunisierung immer kleiner als $^1/_1$. Das bedeutet, daß die beiden Bakterien gegenseitig nicht verwandt sind.

Auf diese Weise kann man nicht nur die Identität und die Differenzierung der Bakterien bestimmen, sondern auch ganz leicht solche Sera herstellen, welche im Vergleich mit der Hauptagglutination eine denkbar niedrige Mitagglutination zeigen. Durch dieses Verfahren gelang es mir, einige repräsentierende Sera bei Typhus- und Paratyphusbazillengruppen herzustellen. Es waren folgende:

1. 2 Typen Typhussera, wovon der eine, Ty., menschliche Typhusbazillen, und der andere, Ht., Hühnertyphusbazillen darstellt. — 2. 2 Typen Paratyphus B-Bazillensera, von denen der eine, PB 8, typische und der andere, PB 37, atypische Paratyphus B-Bazillen darstellt. — 3. 2 Typen Mäusetyphusbazillensera, von denen der eine, Ms 2, typische, und der andere, Ms 34, atypische Mäusetyphusbazillen darstellt. — 4. 2 Typen Paratyphus A-Bazillensera, von denen der eine, PA, typische, und der andere, PA I, atypische Paratyphus A-Bazillen darstellt. — 5. 1 Typus Hogcholerabazillenserum, Hog. Hier muß bemerkt werden, daß die Hogcholerabazillen eigentlich noch nicht genügend untersucht worden sind, so daß hier nur ein Serum zur Untersuchung herangezogen worden ist. — 6. 1 Typus Abortus equi-Bazillenserum, Ab. eq. — 7. 2 Typen Gärtner-Bazillensera, E.G. 3 und E.G. 9, welche beide agglutinatorisch gegenseitig nicht, wohl aber absorptorisch differenziert sind.

In diesen Seren wurden die ihnen entsprechenden agglutinatorisch reinen Stämme kreuzweise agglutiniert und der Agglutinationstiter der einzelnen Stämme in den einzelnen Seris festgestellt. Die Stämme, welche dabei in vielen Seren sich gleichartig verhielten, wurden als identisch betrachtet und an einer Stelle zusammengestellt. Dieses Resultat wurde in einer Tabelle als Musterbeispiel kurz zusammengestellt. Aus dieser Tabelle wird klar, welche komplizierten agglutinatorischen Beziehungen unter den einzelnen Bakterien bestehen. So wurden Hogcholerabazillen im homologen Serum bis zum Titer und im

Tabelle I.

ame r Bak- enen	Name der Immunsera											
	Hg.ch. 2	Ab. eq. 1	Ty. 39	Ht. 6	PA I 1	PA 8	PB 9	PB 37	Ms 5	Ms 34	E.G. 3	E.G. 18
ch. 2	**10 000**	100—	100—	100—	10 000	100—	2000	200	5 000	100—	100—	100—
eq. 1	100—	**20 000**	1 000	1000	100—	100—	500	500	200	2000	100—	200
. 39	100—	500	**10 000**	1000	500	100—	100—	100—	100—	100—	100—	500
. 6	100—	100—	200	**1000**	200	100—	100—	100—	100—	100—	100—	200
I 1	10 000	100—	500	1000	**20 000**	10 000	500	100—	500	100—	100—	200
8	100—	100—	100—	100—	20 000	**20 000**	100—	100—	100—	100—	100—	100—
9	5 000	200	100—	100—	1 000	100—	**5000**	5000	2 000	100—	100—	100—
37	100	100—	100—	100—	100—	100—	5000	**5000**	100—	100—	100—	100—
5	10 000	200	100—	100—	1 000	100—	5000	100	**10 000**	5000	100—	100—
34	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	100—	10 000	**5000**	100—	100—
G. 3	100—	100	200	200	100—	100—	100—	100—	100—	100—	**10 000**	10 000
G. 18	100—	100—	200	100	100—	100—	100—	100—	100—	100—	10 000	**10 000**

Abkürzungen:

Ty. 39	= Typhus.	Ms 34	= atypischer Mäusetyphus.
PA 2	= typischer Paratyphus A.	Hg.ch.	= Hogcholera.
PA I 1	= atypischer Paratyphus A.	Ab. eq.	= Abortus equi.
PB 9	= typischer Paratyphus B.	Ht.	= Hühnertyphus.
PB 37	= atypischer Paratyphus B.	E.G.	= B. Enteritidis Gärtner.
Ms 5	= typischer Mäusetyphus.		

Serum der atypischen Paratyphus A-Bazillen, PA I, sehr stark, fast bis zum Titer, in anderen Seren, nämlich in dem typischen Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillenserum, sehr stark und in den übrigen Seris entweder ganz schwach oder gar nicht reagiert. 2. Abortus equi-Bazillen wurden dagegen bis auf das homologe Serum nur im menschlichen Typhusserum und Hühnertyphusserum sehr stark und in den beiden Paratyphus B- und Mäusetyphus-Seren und in einem Gärtner-Serum ziemlich stark beeinflußt. 3. 2 Typen Typhusbazillen, nämlich menschliche Typhus- und Hühnertyphusbazillen, welche sich gegenseitig so stark beeinflussen, daß man die beiden Bakterien als gleichartig annimmt, unterschieden sich dadurch, daß erstere im Serum von Abortus equi und in atypischen Paratyphus A-Bazillen stark, aber letztere darin entweder gar nicht oder ganz schwach reagierten. Wenn es auch nicht in dieser Tabelle steht, so bemerkten wir doch schon, daß Hühnertyphusbazillen nicht in allen Typhusseren bis zum Titer, umgekehrt nicht alle Typhusbazillen im Hühnertyphusserum bis zum Titer, manchmal sogar gar nicht agglutinierten. 4. Die 2 Typen Paratyphus A-Bazillen reagierten gegenseitig fast gleichartig. Doch sind sie insofern differenziert, als die atypischen Paratyphus A-Bazillen, PA I, in verschiedenen Seris ganz leicht, dagegen die typischen Paratyphus A-Bazillen schwer beeinflußbar sind. Erstere wurden nämlich im Hogcholera- und Hühnertyphusserum fast bis zum Titer, im Typhusserum ebenfalls sehr stark, im Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillenserum, und zwar in den typischen Seren, und in einem Gärtner-Serum, ziemlich stark beeinflußt. Letztere agglutinierten dagegen bis auf das homologe Serum gar nicht. 5. 2 Typen Paratyphus B-Bazillen reagierten gegenseitig gleich stark, bis zum Titer. Sie waren jedoch dadurch differenziert, daß ihr typischer Typus im Hogcholeraserum und dem atypischen Paratyphus A-Serum sehr stark, besonders in dem typischen Mäusetyphusserum sehr stark, bis zum Titer, ihr atypischer Typus dagegen in diesen Sera ganz schwach oder gar nicht reagierte. 6. Auf die gleiche Weise reagierten die zwei Typen Mäusetyphusbazillen gegenseitig gleich stark bis zum Titer. Doch unterschieden sie sich dadurch, daß ihr typhischer Typus im Serum von Hogcholera, in den atypischen Paratyphus A-Bazillen und dem typischen Paratyphus B-Serum sehr stark, ihr atypischer Typus dagegen darin gar nicht reagierte. Hier muß besonders bemerkt werden, daß typische Paratyphus B-Bazillen und typische Mäusetyphusbazillen in vielen Seris sich ganz ähnlich verhalten, so daß es sehr schwer ist, die beiden zu differenzieren. Wenn man aber unser Resultat berücksichtigt, so wird es klar, daß erstere im atypischen Mäusetyphusserum, Ms 34, worin letztere bis zum Titer agglutinieren können, entweder ganz schwach oder gar nicht; umgekehrt aber letztere im atypischen Paratyphus B-Bazillen-Serum, worin erstere bis zum Titer agglutinieren können, entweder ganz schwach oder gar nicht reagieren. 7. Die 2 Stämme Gärtner-Bazillen, welche in den homologen Seren gegenseitig gleich stark, bis zum Titer agglutinierten, reagierten in den anderen Seris auch gleichartig, so daß sie im Typhus- und Hühnertyphusserum in gleicher Weise ziemlich stark agglutinierten. Wenn man dieses Resultat nochmal von der Serumseite her betrachtet, so wird folgendes klar:

1. Hogcholeraserum agglutinierte bis auf die homologen Stämme die atypischen Paratyphus A-Bazillen, PA I, bis zum Titer; die typischen Paratyphus B-Bazillen, PB 2, und die typischen Mäuse-

typhusbazillen, Ms 2, sehr stark, manchmal bis zum Titer. — 2. Das Serum von Abortus equi agglutinierte bis auf die homologen Stämme nur Typhusbazillen, Ty., sehr stark und typische Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillen ganz schwach. — 3. Typhusserum agglutinierte außer den homologen Stämmen Abortus equi, Ab. eq., und die atypischen Paratyphus A-Bazillen, PA I, Gärtner- und Hühnertyphusbazillen E.G. und Ht. sehr stark. — 4. Das Serum von atypischen Paratyphus A-Bazillen agglutinierte nicht nur homologe Stämme, sondern auch die typischen Paratyphus A-Bazillen PA 2 und Hogcholerabazillen, Hog., bis zum Titer, und ferner Typhus-, Ty. typische Paratyphus B-, PB 2, und Mäusetyphusbazillen, Ms 2, sehr stark. — 5. Paratyphus A-Bazillenserum agglutinierte nur homologe Stämme und atypische Paratyphus A-Bazillen. — 6. Ein typischer Typus Schottmüller, PB 8, agglutinierte die beiden Typen Paratyphus B-Bazillen bis zum Titer und ferner einen typischen Typus Mäusetyphusbazillen und atypische Paratyphus A-Bazillen sehr stark, ferner Abortus equi-Bazillen ziemlich stark. — 7. Ein anderer atypischer Typus Schottmüller-Serum, PB 37, agglutinierte die beiden Typen Paratyphus B-Bazillen bis zum Titer, ferner Abortus equi-, Hogcholera-, atypische Paratyphus A-Bazillen und typische Mäusetyphusbazillen ganz schwach. — 8. Ein typischer Typus Mäusetyphusserum, Ms 5, agglutinierte seine beiden Typen bis zum Titer, ferner typische Paratyphus B-Bazillen und Hogcholerabazillen sehr stark, bisweilen bis zum Titer, und atypische Paratyphus A-Bazillen und Abortus equi sehr stark. — 9. Ein anderer atypischer Typus Mäusetyphusserum, Ms 34, agglutinierte nur seine beiden Typen bis zum Titer, aber andere Stämme fast nicht. — 10. Gärtner-Serum agglutinierte die homologen Bakterien bis zum Titer, und ferner Abortus equi-, Typhus-, atypische A- und Hühnertyphusbazillen stark. — 11. Hühnertyphusserum agglutinierte nicht nur homologe Stämme, sondern auch Typhus-, Abortus equi- und atypische Paratyphus A-Bazillen bis zum Titer, und ferner Gärtner-Bazillen deutlich.

Aus den oben im einzelnen genau auseinandergesetzten Ergebnissen kann man leicht erkennen, wie kompliziert verschiedene Sera verschiedenen Bakterien gegenüber, und umgekehrt wie kompliziert verschiedene Bakterien verschiedenen Sera gegenüber sich verhalten, und wie deutlich doch eine Differenzierung der Bakterien und Sera dabei zum Vorschein kommt. Deshalb glaube ich fest, daß man auf diese Weise einerseits Serum, andererseits Bakterien exakt analysieren kann. Falls das Serum erst einmal ausführlich analysiert ist, kann man Bakterien durch Anwendung dieser Sera exakt bestimmen oder identifizieren.

Als Beispiel möchte ich hier einige Bakterien aus der Tabelle zitieren: Als Hogcholerabazillen müssen Bakterien nicht nur im homologen Serum, sondern auch im atypischen Paratyphus A-Bazillenserum bis zum Titer, ferner in einem Typus Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillenserum sehr stark agglutinieren. Als typische Schottmüller B-Bazillen müssen sie in den beiden Typen Paratyphus B-Bazillen bis zum Titer, in einem typischen Mäusetyphusbazillenserum, Ms 2, sehr stark, fast bis zum Titer, ferner im Hogcholera- und atypischen Paratyphus A-Bazillenserum sehr stark reagieren. Als typische Mäusetyphusbazillen müssen sie nicht nur im homologen Serum, sondern auch im anderen atypischen Typus bis zum Titer, ferner im Hogcholera- und

atypischen Paratyphus A-Bazillenserum und in einem typischen Paratyphus B-Bazillenserum sehr stark agglutiniert werden. Durch dieses Verhalten konnten wir Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillen, welche beide früher sehr schwer differenzierbar waren, ganz deutlich unterscheiden, wie oben genau auseinandergesetzt worden ist. Um diese beiden Bakterien agglutinatorisch zu unterscheiden, muß man nämlich zweierlei Sera anwenden, von denen das eine einen atypischen Typus Schottmüller-Bazillen, nämlich PB 37 M, und das andere ebenfalls einen atypischen Typus Mäusetyphusbazillen, Ms 34, darstellt. Diese beiden Bakterienstämme wurden zuerst von Aoki bemerkt und dann von Aoki, Konno und Sakai eingehend untersucht.

Diese agglutinatorische Analyse der Bakterien scheint meines Wissens bis jetzt von niemand berücksichtigt worden zu sein. Doch glaube ich sicher, daß man durch diese Methode die agglutinatorische Verwandtschaft, ferner die agglutinatorische Einteilung der Bakterien immer exakter feststellen kann.

Literatur.

1) Aoki u. Konno, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 139. — 2) Dies., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 330. — 3) Dies., Tohoku Journ. of Exp. Med. Vol. 1. 1920. p. 475. — 4) Ders. u. Iizuka, Ibid. Vol. 1. S. 493. — 5) Ders. u. Konno, Ibid. Vol. 2. 1921. p. 65. — 6) Dies., Ibid. Vol. 2. p. 71. — 7) Dies., Ibid. Vol. 2. 1921. p. 75. — 8) Ders., Ibid. Vol. 2. 1921. p. 131. — 9) Ders., Ibid. Vol. 2. 1921. p. 142. — 10) Ders. u. Konno, Ibid. Vol. 2. 1921. p. 376. — 11) Dies., Ibid. Vol. 3. 1922. p. 56. — 12) Konno u. Sakai, Ibid. Vol. 3. 1922. p. 333. — 13) Sakai, Ibid. Vol. 3. 1922. p. 341. — 14) Aoki, Ibid. Vol. 4. 1923. p. 12. — 15) Sakai, Ibid. Vol. 5. 1924. p. 275. — 16) Aoki, Ikegami, Shoji, Murakami u. Tazawa, Ibid. Vol. 5. 1925. p. 452. — 17) Sakai, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 438.

Ein hämolysierendes Bacterium coli mutabile.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Köln (Prof. Dr. Reiner Müller).]

Von Dr. med. et phil. **Hermann Simchowitz.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Bei gemeinsam mit K. L. Pesch ausgeführten physikalisch-chemischen Untersuchungen über Coli-Agglutination fanden wir einen Coli-Stamm, der sich als Bacterium coli mutabile erwies.

Nachdem Max Neisser 1906 der freien Vereinigung für Mikrobiologie die Untersuchungen seines Schülers Massini über dieses interessante Bakterium kurz vorgetragen hatte, haben 1907 Massini und 1908 Burk die grundlegende Beschreibung zweier solcher Bakterienstämme geliefert. Seither ist über B. coli mutabile viel Kasuistik erschienen, die durch Conradi und Bierast, Eisenberg und Baerthlein ausführlich zusammengefaßt worden ist.

Unser Stamm bietet einige Abweichungen von den bisher beschriebenen Stämmen. Er wurde aus einem Abstrich von der Dickdarm-

schleimhaut bei eitriger Colitis gezüchtet. Die Kolonien bildeten auf Blutagar einen stark hämolytischen Hof, wuchsen auf Endoschem Fuchsin-Laktoseagar blaß rosa, auf Malachitgrünagar (1:12000) nicht. Auf dem Endo-Agar nun bildete es, vor allem deutlich in den einzelstehenden Kolonien, nach mindestens 24stünd. Wachstum zahlreiche, zuerst nur mit der Lupe sichtbare, hervortretende schwachrote Tochterkolonien; diese erreichten nach 48 Std. etwa Stecknadelkopfgröße; auch an Zahl immer mehr zunehmend, durchsetzten sie schließlich die dicht beieinanderstehenden Kolonien ganz, während bei noch weiter wachsenden isoliert stehenden Einzelkolonien nur der jüngste Randstreifen frei von diesen Knöpfen blieb. Nach 3—4 Tagen nahmen diese Knöpfe eine dunkelrosa, und endlich tiefrote Farbe an, und zum Teil den sonst für das Bacterium coli commune charakteristischen metallischen Fuchsinglanz. Das Bild zeigt 4 Tage alte Kolonien auf ein-

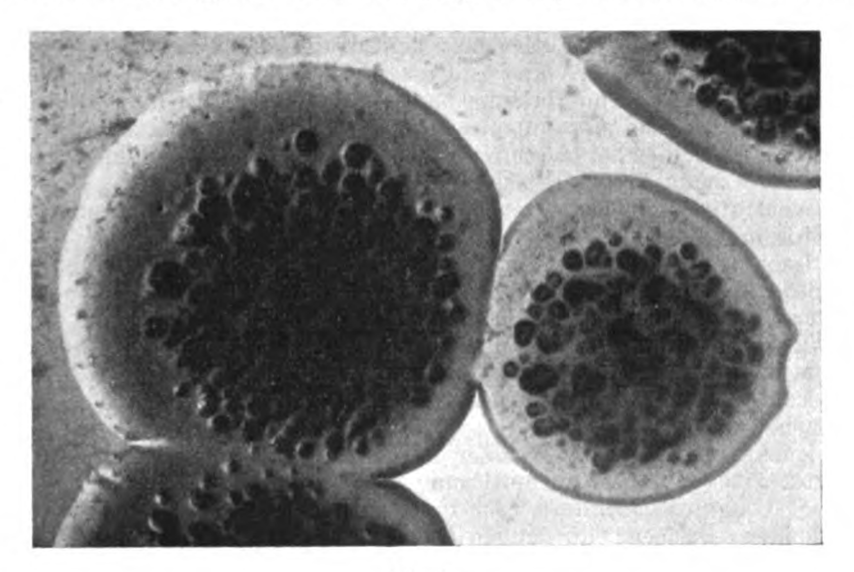


Fig. 1.

fachem Nähragar mit 1 Proz. Laktose, in 8facher Vergrößerung; die Kolonieform ist durchaus verschieden von derjenigen der Burkschen Photographien. Abimpfung von einer jungen, höchstens 24 Std. alten Kolonie ergab auf Endo-Agar immer blaß wachsende und nach 24 Std. knopfbildende Kolonien. Wurde dagegen von den Knöpfen einer 48stündigen alten Kolonie auf Endo-Agar überimpft, so entstanden neben wenigen blaß wachsenden und weiter knopfbildenden Kolonien tiefrot wachsende Kolonien, mit dem typischen metallischen Fuchsinglanz. Abimpfung von einer möglichst nicht knopfhaltigen Stelle einer mindestens 48 Std. alten Kolonie ergab zahlreiche schwachrosa wachsende, knopfbildende, und nur vereinzelte tiefrote Kolonien.

Diese tiefroten Kolonien nun bildeten nie Knöpfe, auch nach Zwischenpassage der verschiedenartigsten künstlichen Nährböden, vielmehr immer nur gleichartige tiefrote, nicht knopfbildende Kolonien; blaß wachsende, knopfbildende waren aus ihnen nicht mehr zu erhalten. Diese auf Endo-Agar tiefrot wachsenden Kolonien seien im folgenden

kurz als „R“ (rot), die blaß wachsenden knopfbildenden als „W“ (weiß) bezeichnet.

Monatelang fortgesetzte Kontrollen schlossen eine Verunreinigung aus. Es liegt also hier eine Mutation im Sinne von Neisser und Massini vor; oder, da de Vries das Wort Mutation für nicht ganz identische Vorgänge bei höheren, sich geschlechtlich vermehrenden Pflanzen geprägt hat, eine „Bakterienmutation“ nach Reiner Müller (1912). Grundbedingung für das Auftreten der Mutation ist auch bei unserem Bakterium der Laktosezusatz zum Nährboden. Mit Zusatz anderer Zuckerarten: Dextrose, Lävulose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Raffinose statt Laktose gelang das nicht. Von den Eigenschaften unseres Stammes seien folgende genannt:

Mikroskopisch: kurze, plumpe, bewegliche, gramnegative Stäbchen; kein Unterschied zwischen unmutierter W- und mutierter R-Form.

Blutagar: grauweiße Kolonien, starker hämolytischer Hof, geringe Braunverfärbung des Nährbodens; kein Unterschied zwischen W- und R-Form. — Blutagar mit 1 Proz. Laktose: grauweiße Kolonien, hämolytischer Hof, Knopfbildung nach 48 Std., geringe Braunverfärbung des Nährbodens bei der unmutierten Form; dagegen bei der R-Form grauweiße Kolonien mit hämolytischem Hof, keine Knopfbildung, starke Braunverfärbung des Nährbodens infolge Laktosevergärung.

Neutralrot-Traubenzuckeragar: Gasbildung und Verfärbung nach 24 Std. in gleicher Stärke bei W- und R-Form.

Lackmusmolke (Kahlbaum): Nach 24 Std. ganz geringe, nach 48 Std. mäßige, nach 72 Std. stärkere Rötung bei der unmutierten Form; dagegen bei der R-Form nach 24 Std. starke Rötung.

Trypsinbouillon: Indolbildung nach 24 Std. bei beiden Formen.

Malachitgrünagar (1:12000): kein Wachstum bei beiden Formen.

Telluragar (1:20000 Kaliumtellurit): kein Wachstum bei beiden Formen.

Zuckervergärung: 1) Wasser mit 1 Proz. Pepton, 1/2 Proz. NaCl, 1 Proz. Zucker, und Lackmuslösung als Indikator: Bei Dextrose, Lävulose, Galaktose, Maltose, Saccharose, nach 24 Std. starke Rötung bei beiden Formen; die unmutierte Form zeigte auf Laktose nach 24 Std. keine, nach 48 Std. geringe, nach 72 Std. starke Rötung. — 2) Natriumsulfit-Fuchsinagar mit 1 Proz. Zucker: Beide Formen zeigen auf Mannit, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Saccharose nach 24 Std. starke Rötung, keine Knopfbildung; auch auf Raffinose, Maltose Rötung, jedoch bei der unmutierten Form anscheinend langsamer eintretend als bei der mutierten.

Eine Gegenüberstellung unseres Stammes mit dem Massinischen und dem Burkschen ergibt:

Das Massinische Bakterium war unbeweglich. Es bildete kein Indol. Ueber sein Verhalten auf Blutagar und auf Raffinose- und Maltose-Fuchsinagar wird nichts gesagt. Jedoch hat Reiner Müller in bisher nicht veröffentlichten Versuchen (nach persönlicher Mitteilung) im Februar 1908 festgestellt, daß das Massinische Bakterium Blutagar nicht hämolysierte und auf Lackmus-Zuckeragar aus Maltose Säure bildete, aus Saccharose und Raffinose aber nicht. Bei dem Burkschen Stamm, dessen Kolonien sich durch äußerst schleimiges Wachstum sowohl vom Massinischen wie von unserem Stamm unterschieden, verhielt sich die Zuckervergärung wie bei unserem. Ueber die Beweglichkeit ist nichts gesagt; auf Malachitgrünagar (1:50000) da-

gegen trat Wachstum ein; auf Blutagar bildete die Bakterienkolonie keinen hämolytischen Hof. Diesen letzteren Punkt, daß unser Mutabile-Stamm hämolysierend wächst, möchten wir besonders betonen, weil gerade die hämolysierenden Coli-Stämme in letzter Zeit durch die Arbeiten von Meyer und Löwenberg sowie Bitter und Gundel in den Mittelpunkt des Interesses gerückt sind.

Ein Rückschlag der laktosevergärenden R-Form in die ursprüngliche W-Form gelang auf den verschiedensten künstlichen Nährböden nie. Ebensowenig durch Verimpfung auf Mäuse, also auf einen natürlichen Standort, den tierischen Organismus; wobei durch Abstufung der subkutan injizierten Bakterienmenge der Tod der Tiere nach 1, 2, 3 oder 4 Tagen eintrat. Unser Ergebnis stimmt also mit den Angaben von Baerthlein überein, während Bernhardt und Markoff von positiven Resultaten berichten. Auch versuchten wir vergeblich durch Verimpfung der W-Form auf Mäuse die laktosevergärende R-Form zu erzielen, wie es Kowalenko angegeben hat. Auch hier war, in Uebereinstimmung mit Massini, aus den Tieren immer nur die unmutierte W-Form zu züchten.

Was schließlich die agglutinatorischen Eigenschaften unseres Bakterienstammes betrifft, so wurde er in den Verdünnungen 1:50, 1:100, 1:200 weder durch Typhus-, Paratyphus B-, Flexner-, Shiga-, Y-Ruhrserum, noch durch normales Kaninchenserum agglutiniert. Wir immunisierten daher durch 4malige subkutane Einspritzung abgetöteter Bakterien in Zwischenzeiten von etwa einer Woche ein Kaninchen mit der nichtmutierten W-Form, ein anderes mit der mutierten, also laktosevergärenden R-Form, und schließlich ein Kaninchen mit einem gewöhnlichen Coli-Stamm C. Ein hoher Titer war, entsprechend den Angaben der früheren Autoren, nicht zu erzielen. Die Agglutinationsverhältnisse mit den Immunseren waren folgende:

Das C-Serum agglutinierte den eigenen Stamm bis 1:800, den W- und R-Stamm gar nicht.

Das W-Serum agglutinierte den eigenen W-Stamm bis 1:800, den R-Stamm bis 1:200, den gewöhnlichen C-Stamm gar nicht.

Das R-Serum agglutinierte den eigenen R-Stamm bis 1:400, den W-Stamm nur bis 1:50, den C-Stamm gar nicht. Wir sehen also doch gewisse agglutinatorische Unterschiede zwischen der W- und R-Form.

Was endlich noch die elektrischen Ladungsverhältnisse der W- und R-Form betrifft, so boten Kataphoreseversuche keinen Anlaß in dieser Hinsicht einen wesentlichen Unterschied zwischen den beiden Formen anzunehmen; beide verhielten sich, wie auch die sonstigen Bakterien der Coli-Gruppe, negativ geladen, zur Anode wandernd, und zwar gehören sie zu den rasch wandernden, stark geladenen. Im übrigen sei hierüber auf die demnächst zu veröffentlichenden Untersuchungen von Pesch und Simchowitz verwiesen.

Literatur.

Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66 1912. S. 21; in Kraus-Uhlenhuth, Hdb. d. mikrobiol. Techn. Bd. 2. 1923. S. 1195. — Bernhardt u. Markoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. S. 1. — Bitter u. Gundel, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 104. 1925. S. 203 u. 752. — Burk, Arch. f. Hyg. Bd. 65. 1908. S. 235. — Conradi u. Bierast, Kolle-Wassermann, Hdb. d. path. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 6. 1913. S. 505. — Eisenberg, Weicherts Ergebn. d. Immunitätsforschg. N. F. Bd. 1. 1914. S. 59. — Jollos, Centralbl. f. Bakt.

Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. Beih. S. 22. — Kowalenko, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66 1910. S. 277. — Löwenberg, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. 41. 1924. — Massini, Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. S. 250. — Meyer u. Löwenberg, Klin. Wochenschr. 1924. H. 19. — Müller, Reiner, Zeitschr. f. ind. Abstammungs- und Vererbungsl. Bd. 8. 1912. S. 305. — Neisser, Centralbl. f. Bakt. I. Ref. Bd. 38 1906. Beih. S. 98. — Pesch u. Simchowitz, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 1926.

Ueber Variationserscheinungen unseres neuen Paratyphusstammes (Sasaki-Stamm).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von Dr. **T. Hayashi.**

Es ist nicht meine Absicht, hier alle Variationserscheinungen, welche von vielen Forschern bei verschiedenen Bakterien beobachtet worden sind, einzeln zu zitieren. Sondern ich möchte mich darauf beschränken, auf die Erscheinungen bei solchen Bakterien, welche zu unseren Bakterien nahe Beziehung haben, literarisch einzugehen. Solche Bakterien sind die, welche während des Weltkrieges in der Türkei, in Südrußland, dem Balkangebiet, Kleinasien und Arabien einerseits von der deutschen Armee und andererseits von englischen Truppen gefunden wurden. Sie wurden von Hirschfeld in England Paratyphus C, von Weil in Oesterreich Paratyphus B genannt und sind einmal bei solchen Kranken nachgewiesen worden, welche ruhrartige, fieberhafte Erscheinungen zeigten, ein andermal bei solchen, welche septikämisch-typhöse, sowie bei solchen, welche einfach typhöse Symptome zeigten. Es handelt sich dabei um Bakterien, welche im Typhus-, Paratyphus A- und Gärtnerserum gar nicht, im Paratyphus B-Serum bei einem Autor nicht, jedoch bei den anderen Autoren stark reagieren können. Uebereinstimmend werden sie aber in den Hogcholera-, Suipestifer- und Gärtner-Voldagsen-Seren ohne Ausnahme sehr stark agglutiniert, und zwar manchmal so stark, daß z. B. Neukirch, Kaunitz und Trawinski diese Bakterien dadurch fast nicht unterscheiden konnten. Ten Broek soll sogar durch Absorptionsverfahren diese Bakterien mit den Hogcholerabazillen haben identifizieren können.

Neukirch, welcher diese Art Bakterien zuerst in der Türkei gefunden hatte, bemerkte schon, daß sie variieren können. Denn er fand im Anfang seiner Untersuchungen nur Stämme, welche im Paratyphus B-Serum ganz inagglutinabel waren, bei späteren Untersuchungen derselben Kranken jedoch in ihrem Blut eine andere Form der Bakterien, welche sich hauptagglutinatorisch ganz gleich wie die 1. Form verhielt, jedoch insofern von ihr abweicht, als sie im Paratyphus B-Serum sehr stark agglutinabel ist. Diese Erscheinung konnte er ferner in der Kultur dieser Mikroben nachweisen, so daß die 2. Form aus der 1. und umgekehrt die 1. aus der 2. Form entstehen kann. Weil und Saxl, welche dieselben Mikroorganismen bei typhösen, septischen Kranken einmal in Wolhynien, ein andermal in Albanien gefunden hatten, konnten 2 Abarten beobachten, von denen die eine, nämlich der albanische Stamm,

einen Stamm darstellt, welcher im Paratyphus B-Serum nicht agglutiniert, wogegen die andere, nämlich der wolhynische Stamm, in demselben Serum sehr stark agglutinieren kann. Die Stämme, welche von Andrews und Neave einmal im Blut, ein andermal im Harn gefunden worden waren, verhielten sich gleich. Der Blutstamm war im Paratyphus B-Serum inagglutinabel, der Harnstamm dagegen agglutinierte. Dieser Blutstamm sollte sich während der Umzüchtung so verändert haben, daß er im Paratyphus B-Serum sehr stark agglutinieren kann. Fürth, welcher diese Variationserscheinung bei dem Stamm von Albanien durch Isolierungsverfahren genau studiert hatte, fand zwei Variationsformen dieser Kultur, von denen die eine nicht nur die gegen Paratyphus B-Bakterien gerichteten, sondern auch die homologen Rezeptoren gänzlich verloren hatte, so daß sie einen neuen selbständigen Rezeptor bekam. Eine noch andere Variante sollte die Form darstellen, welche zwischen den beiden Formen, nämlich der obigen Variante und dem Ausgangsstamm, steht.

Zu diesen Beobachtungen möchte ich hier meine Erfahrung über die Variationserscheinungen hinzufügen. Unsere Bakterien sehen im großen und ganzen auch so aus, wie die Bakterien, welche in Europa im Weltkriege gefunden worden sind. Sie sind dadurch ausgezeichnet, daß sie einerseits im Paratyphus B-Serum, d. h. im Serum von einem Typus derselben, sehr stark, andererseits im Hogcholeraserum sehr stark agglutinieren. Im Serum Paratyphus A- und Gärtner sind sie nicht agglutinierbar, weichen jedoch insofern von den europäischen Stämmen ab, als sie im Serum von Mäusetyphusbazillen sehr stark agglutinieren können. Doch weiß ich nicht sicher, ob die europäischen Stämme diese Eigenschaften nicht auch besitzen, weil keine Angabe darüber in der Literatur zu finden ist, so daß ich der Meinung bin, daß man diese Frage unberührt gelassen hat. Da ich zuerst bei einer halbjährigen Untersuchung bemerkte, daß unser Stamm im Serum von Paratyphus B-Bazillen einmal stark, ein andermal schwach reagierte, wurde er durch Plattenverfahren in Kolonien zerlegt und die einzelnen Kolonien wurden im Paratyphus B-Serum agglutinatorisch geprüft. Dabei wurde festgestellt, daß 2 Typen gegenüber demselben Serum vorhanden sind, wovon der eine den darstellt, welcher darin stark, und der andere den, welcher darin ganz schwach reagieren kann. Bequemlichkeitshalber wurde ersterer Typus die a-Form und letzterer die b-Form genannt. Unter 25 Kolonien wurde die a-Form 15 und die b-Form 10mal gezählt. Diese beiden Formen wurden ferner in ihren repräsentierenden Seren, womit der Originalstamm untersucht wurde, auch genau geprüft. Dabei ergab sich, daß sich die a-Form fast ebenso verhielt wie die originale Kultur, so daß sie im Serum eines Typus von Paratyphus B-Bazillen (Pb 1) sehr stark, im Serum des einen Typus von Mäusetyphusbazillen

Tabelle I.

Immunsera	515 Pb 9	706 Pb 1	505 Pb 37	435 Ms 2	1280 Ms 34	1718 Chol. suis	1235 Ms 56	1350 E. G. 3	1354 E.G.15	1552 Ty 39	814 P. A 1
Titer	20 000	5000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	20 000	20 000
Bakterien											
Sasaki a-Form	2000	2000	100	10000 ±	200	10 000	2000	100 —	100 —	100	500
Sasaki b-Form	50 ±	50 ±	50 ±	10000 ±	2000	50 —	200	100 —	100 —	100	500

(Ms 2) bis zum Titer, in einem Hogcholeraserum sehr stark, bis zum Titer, aber in einem anderen Serum nicht so stark wie im anderen reagierte. Die b-Form dagegen wurde in beiden Mäusetyphusseris sehr stark bis zum Titer agglutiniert, fast nicht aber in den Seris von Hogcholera beeinflußt. Ebenso war ihr Verhalten im Pb-Serum. Nach diesem Ergebnis muß die b-Form als eine von der anderen Form ganz verschiedene Variante betrachtet werden. Erstere hat nämlich starke Beziehung zu den Paratyphus B-Bazillen, letztere aber gar keine. Dieses Verhalten scheint bei den anderen Bakterien, welche in Europa gefunden worden waren, gleich zu sein. (Aber die Beziehung unserer Variante zum Hogcholeraserum ist ganz anders, als bei den Stämmen in Europa, weil die b-Form nur denjenigen Stamm darstellt, welcher in Hogcholeraserum fast nicht reagiert.) Diese beiden gereinigten Varianten wurden in 5tägigen Intervallen 40mal hintereinander auf Schrägagar umgeimpft. Während dieser Zeit wurden sie ab und zu in denselben Seren agglutinatorisch geprüft. Es stellte sich dabei heraus, daß sich die b-Form schon nach 10maliger Umzüchtung der a-Form zu nähern anfing, so daß sie im Pb.-Serum und Hogcholeraserum stärker als vorher reagieren konnte. Nach 40maliger Umzüchtung neigte sie so stark zur a-Form, daß man die beiden Formen nicht mehr unterscheiden konnte (Tab. II). Wurde dabei

Tabelle II.

Immunsera	1552 Ty 39	814 P. A 1	828 P. A 2	515 Pb 1	1843 Pb 37	435 Ms 2	1280 Ms 34	1950 E. G. 3	1955 E.G.18	1718 Chol. suis
Titer	10 000	20 000	5000	20 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
Sasaki original	50 —	500	50 —	2000	100	5000	500	50 —	100 —	5000
Sasaki a-Form	50 —	500	50 —	2000	100	5000	200	50 —	100 —	10 000
Sasaki b-Form	50 —	500	50 —	50 ±	50 ±	5000	2000	50 —	100 —	50 —
nach 10mal umgezüchtet										
Sasaki original	50 —	500	50 —	2000	100	5000	500	50 —	100 —	5000
Sasaki a-Form	50 —	500	50 —	2000	100	5000	500	50 —	100 —	10 000
Sasaki b-Form	50 —	500	50 —	500	100	5000	1000	50 —	100 —	500
nach 10mal umgezüchtet										
Sasaki original	50 —	500	50 —	2000	100	5000	500	50 —	100 —	5000
Sasaki a-Form	50 —	500	50 —	2000	100	5000	500	50 —	100 —	5000
Sasaki b-Form	50 —	500	50 —	2000	100	5000	500	50 —	100 —	5000

die Kultur der a-Form in Kolonien zerlegt, so fand man ganz leicht die beiden Formen wieder getrennt. Nach diesem Ergebnis kann man annehmen, daß die beiden Varianten während der Umzüchtung gegenseitig voneinander neu gebildet werden. Infolgedessen müssen die beiden Formen immer gerade vor dem Gebrauch frisch gereinigt und durch bestimmte Seren geprüft werden, ob sie die richtigen reinen Formen darstellen. Erst auf diese Weise kann man immer mit reinen Kulturen arbeiten. Hier wurde ferner die agglutinatorische Beziehung der beiden Formen nicht nur gegeneinander, sondern auch anderen Bakterienarten gegenüber nach der Methode von Aoki und Konno geprüft, wie ich in der vorigen Mitteilung berichtet habe. Wie man aus den Tabellen (III und IV) ganz leicht ersehen kann, verhielten sich die beiden Formen dem Originalstamme gegenüber ganz gleich, so daß dabei der agglutinatorische Index während der Immunisierung mit den beiden Formen immer so groß oder fast so groß wie $^1/_1$ war. Dagegen verhielten sie

Tabelle III.

Mal der Einspritzung	I	II	III	IV	V	VI	VII
Beziehung zwischen der Haupt- u. Mitagglut.							
Sasaki original / Sasaki a-Form	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
Sasaki b-Form / Sasaki a-Form	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$
Pb 1 / Sasaki a-Form	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
Pb 37 / Sasaki a-Form	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{7}$	$\frac{1}{13}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$
Ms 2 / Sasaki a-Form	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
Ms 34 / Sasaki a-Form	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{4}$
Cholera suis / Sasaki a-Form	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$

Tabelle IV.

Mal der Einspritzung	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Beziehung zwischen der Haupt- u. Mitagglut.								
Sasaki original / Sasaki b-Form	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$
Sasaki a-Form / Sasaki b-Form	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
Pb 1 / Sasaki b-Form	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$
Pb 37 / Sasaki b-Form	$\frac{1}{12}$	$\frac{1}{73}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{23}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{14}$
Ms 2 / Sasaki b-Form	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
Ms 34 / Sasaki b-Form	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
Cholera suis / Sasaki b-Form	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{5}$

sich zueinander ganz anders, so daß der Index bei der Immunisierung mit der a-Form der b-Form gegenüber immer viel kleiner als $^1/_1$ war, wogegen er sich bei der Immunisierung mit der b-Form der a-Form gegenüber beinahe so groß wie $^1/_1$ zeigte. Durch dieses Verhalten wurde agglutinatorisch genau nachgewiesen, daß die a-Form von der b-Form ganz verschieden ist. Ferner wurde die agglutinatorische Beziehung der beiden Formen anderen Bakterien gegenüber noch untersucht.

Es ergab sich dabei folgendes: Paratyphus B-Bazillen gegenüber verhielt sich die a-Form so, daß der Index dem Typus Pb 1 gegenüber immer so groß wie $^1/_1$, doch dem anderen Typus Pb 37 gegenüber immer viel kleiner als $^1/_1$ war (Tab. III). Was das agglutinatorische Verhalten der b-Form denselben Bazillen gegenüber anbelangt, so zeigte

sich der Index während der ganzen Immunisierung immer viel kleiner als $^1/_1$ (Tab. IV). Einem Typus von Mäusetyphus (Ms 2) gegenüber war der Index bei der a-Form ebenso groß wie $^1/_1$, dem anderen Typus, Ms 34, gegenüber aber viel kleiner als $^1/_1$ (Tab. III). Bei den b-Form-Bazillen erwies er sich ihren beiden Typen gegenüber immer als ebenso groß wie $^1/_1$ (Tab. IV). Hogcholerabazillen gegenüber aber verhielt sich der Index während der Immunisierung mit der a-Form viel größer, als bei der Immunisierung mit der b-Form (Tab. III und IV), wurde aber auch bei der a-Form nicht so groß wie $^1/_1$ (Tab. V). Bei der

Tabelle V.

Mal der Einspritzung	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Beziehung zwischen der Haupt- u. Mitaglut.								
Sasaki a-Form / Ms 2	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{2}$
Sasaki b-Form / Ms 2	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2,5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2,5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{2}$

Immunisierung mit Ms 34 trat ein großer Unterschied zwischen beiden Formen auf, so daß der Index bei der a-Form viel kleiner als $^1/_1$ war, dagegen bei der b-Form fast so groß wie $^1/_1$ (Tab. VI). Bei der

Tabelle VI.

Mal der Einspritzung	I	II	III	IV	V	VI	VII
Beziehung zwischen der Haupt- u. Mitagglut.							
Sasaki a-Form / Ms 34	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$
Sasaki b-Form / Ms 34	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2,5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$

Immunisierung der Hogcholerabazillen war der Index den a-Form-Bazillen gegenüber viel größer, als der b-Form gegenüber, aber doch nicht so groß wie $^1/_1$ (Tab. VII). Aus allen diesen Ergebnissen kann man

Tabelle VII.

Mal der Einspritzung	I	II	III	IV	V
Beziehung zwischen der Haupt- u. Mitagglut.					
Sasaki a-Form / Cholera suis	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$
Sasaki b-Form / Cholera suis	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{1000}$

wohl ersehen, daß die a-Form einerseits einem Typus von Paratyphus B und einem Typus von Mäusetyphus und andererseits Hogcholera, die b-Form dagegen nur den beiden Typen von Mäusetyphus nahe zu stehen scheint. Besonders ist hier hervorzuheben, daß sich die b-Form als mit Mäusetyphusbazillen, und zwar Ms 34, am nächsten verwandt erwies.

Als ferner die Bakterienstämme, in deren Seris die a- und b-Form agglutinatorisch untersucht worden waren, in den Seren der beiden Formen genau untersucht wurden, ergab sich folgendes: Im Serum der a-Form wurde die b-Form viel weniger als der Titer, im Serum der b-Form aber umgekehrt die a-Form gleich stark bis zum Titer agglutiniert. Im Serum der a-Form wurde der eine Typus Paratyphus B, nämlich Paraty. B 1, der eine Typus der Mäusetyphusbazillen, Ms 2, und B. cholera suis bis zum Titer agglutiniert, der andere Typus Paratyphus B, Pb 37, und der andere Typus Mäusetyphus, Ms 34, aber nicht bis zum Titer, sondern nur wie $^1/_4$. Der eine Typus der Paratyphus A-Bazillen, PA 1, agglutinierte wie $^1/_{10}$, der andere Typus der Paratyphus A-Bazillen (PA 2) und die Typhusbazillen zeigten aber darin keine positive Agglutination. Im Serum der b-Form-Bazillen wurden die beiden Typen der Mäusetyphusbazillen bis zum Titer agglutiniert. Der eine Typus der Paratyphus B-Bazillen, Pb 1, und Hogcholerabazillen agglutinierten darin wie $^1/_2$—$^1/_4$. Der andere Typus der Paratyphus B-Bazillen, Pb 37, reagierte noch viel schwächer als der andere Typus, nämlich $^1/_{20}$, Typhus, PA 1- und PA 2-Bazillen reagierten aber darin gar nicht (Tab. VIII).

Tabelle VIII.

Name der Immunsera	Sasaki a-Form	Sasaki b-Form
Titer	20 000	10 000
Bakterien		
Sasaki original	20 000	10 000
Sasaki a-Form	20 000	10 000
Sasaki b-Form	2000	10 000
Typhus	50	50 —
P. A 1	2000	100
P. A 2	50 —	50 —
Pb 1	20 000	5000
Pb 2	5000	500
Ms 2	20 000	10 000
Ms 34	5000	10 000
Cholera suis	10 000	2000

Tabelle IX.

Immunsera	2070 Sasaki original	2070 Sasaki original	2070 Sasaki original
absorbiert mit		Sasaki a-Form	Sasaki b-Form
Bakterien			
Sasaki original	20 000	100 —	10 000
Sasaki a-Form	20 000	100 —	10 000
Sasaki b-Form	10 000	100 —	100 —
Pb 1	10 000	100 —	5000
Pb 37	5000	100 —	1000
Ms 2	20 000	100 —	5000
Ms 34	10 000	100 —	100 —
Cholera suis	10 000	100 —	5000

Zum Schluß wurden die beiden Formen durch das Absorptionsverfahren nicht nur gegenseitig, sondern auch gegen andere Bakterien verglichen. Zuerst wurden die Sera, welche mit den Originalkulturen hergestellt waren, von den beiden Formen einzeln absorbiert. Dabei ergab sich, daß ihr Agglutinin von den a-Form-Bazillen total, von den b-Form-Bazillen aber gar nicht absorbiert wurde (Tab. IX). Ebenso trat die a-Form von der b-Form ganz differenziert auf, falls ihre Sera von ihnen gegenseitig absorbiert wurden. Dabei scheint die a-Form der b-Form gegenüber doppelte Rezeptoren zu haben. Wenn nämlich das Serum der b-Form von der a-Form absobiert wurde, so scheint es alle spezifischen Agglutinine zusammen mit den Mitagglutininen zu verlieren. Wohl aber blieben die spezifischen Rezeptoren gegen die a-Form fast unverändert, wenn das a-Form-Serum von der b-Form absorbiert wurde (Tab. X und XI). Dieser Unterschied der beiden Formen kann auch durch andere Bakterien erwiesen werden. Wenn das Serum der a-Form von Mäusetyphusbazillen, und zwar Ms 2, absorbiert wurde, so wurden die spezi-

fischen Agglutinine zusammen mit den Mitagglutininen total weggenommen (Tab. X). Aber die spezifischen Agglutinine vom Ms 2-

Tabelle X.

Immunsera	2073 Sasaki a-Form	2073 Sasaki a-Form	2073 Sasaki a-Form	2073 Sasaki a-Form	2073 Sasaki a-Form	2073 Sasaki a-Form	2073 Sasaki a-Form
absorbiert mit		Pb 1	Pb 37	Ms 2	Ms 34	Chol. suis	Sasaki b-Form
Bakterien							
Sasaki a-Form	50 000	200	5000	100 —	2000	1000	5000
Sasaki b-Form	5000	2000	2000	100 —	2000	2000	100 —
Pb 1	50 000	100 —	1000	100 —	2000	2000	2000
Pb 37	10 000	100 —	100 —	100 —	200	100 —	2000
Ms 2	50 000	2000	5000	100 —	1000	2000	2000
Ms 34	10 000	2000	5000	100 —	100 —	5000	100 —
Cholera suis	20 000					100 —	5000

Serum blieben fast unverändert, wenn das Serum Ms 2 umgekehrt von der a-Form absorbiert wurde (Tab. XIII). Die spezifischen Agglutinine

Tabelle XI.

Immunsera	2018 Sasaki b-Form	2048 Sasaki b-Form	2048 Sasaki b-Form	2048 Sasaki b-Form	2048 Sasaki b-Form	2048 Sasaki b-Form	2048 Sasaki b-Form
absorbiert mit		Pb 1	Pb 34	Ms 2	Ms 34	Chol. suis	Sasaki a-Form
Bakterien							
Sasaki a-Form	10 000	2000	1000	100 —	100 —	2000	100 —
Sasaki b-Form	10 000	5000	2000	100 —	100 —	2000	100 —
Pb 1	10 000	100 —	500	100 —	100 —	2000	100 —
Pb 37	1000	100 —	100 —	100 —	100 —	200	100 —
Ms 2	10 000	2000	2000	100 —	100 —	2000	100 —
Ms 34	10 000	5000	5000	100 —	100 —	5000	100 —
Cholera suis	2000	100 —	1000	100 —	100 —	100 —	100 —

des a-Form-Serums wurden ebenfalls durch andere Mäusetyphusbazillen, nämlich Ms 34, nicht absorbiert (Tab. X), umgekehrt aber wurden die spezifischen Agglutinine von Ms 34 von der a-Form ganz absorbiert (Tab. XIII). Dagegen verhielt sich die b-Form denselben Bakterien gegenüber ganz anders. Spezifische Agglutinine der b-Form wurden durch Ms 2 total absorbiert, nicht aber die Agglutinine von Ms 2 von der b-Form (Tab. XI und XIII). Was die b-Form-Bazillen des anderen Typus der Mäusetyphusbazillen, Ms 34, anbelangt, so wurden die spezifischen Agglutinine gegenseitig total absorbiert (Tab. XI und XIII). Hogcholerabazillen gegenüber verhielten sich die a-Form-Bazillen so, daß ihre spezifischen Agglutinine von Hogcholerabazillen nicht absorbiert wurden, aber die spezifischen Agglutinine von Hogcholera von den a-Form-Bazillen gänzlich (Tab. X und XIII). Dagegen konnten die b-Form-Bazillen die spezifischen Agglutinine von Hogcholera nicht erschöpfen, ebenso umgekehrt die Hogcholerabazillen die spezifischen Agglutinine der b-Form-Bazillen gar nicht (Tab. XI und XIII). Para-

typhus B-Bazillen gegenüber zeigten die beiden Formen keine absorptorische Beziehung (Tab. X und XII).

Tabelle XII.

Immunsera	515 Pb 1	515 Pb 1	515 Pb 1	1843 Pb 37	1843 Pb 37	1843 Pb 37
absorbiert mit		Sasaki a-Form	Sasaki b-Form		Sasaki a-Form	Sasaki b-Form
Bakterien						
Sasaki a-Form	2000	100 —	1000	500	100 —	100 —
Sasaki b-Form	50 ±	100 —	100 —	500	100 —	100 —
Pb 1	5000	5000	2000	10 000	5000	5000
Pb 37	5000	500	1000	10 000	2000	2000
Ms 2	2000	100 —	500	500	100 —	100 —
Ms 34	50 —	100 —	100 —	100 —	100 —	100 —

Durch die obigen Ergebnisse des Absorptionsverfahrens wurde auch genau festgestellt, wie die a- und b-Formen gegenseitig unterschieden sind, und zwar sind sie so differenziert, daß die a-Form beiden Paratyphus B-Bazillen gegenüber absorptorisch keine Beziehung, einem Typus Mäusetyphusbazillen, nämlich Ms 2, gegenüber aber halbseitige nahe Beziehung, ihrem anderen Typus gegenüber ebenfalls halbseitige nahe Beziehung und ferner Hogcholerabazillen gegenüber gleichfalls halbseitige nahe Beziehung besitzen (Tab. X und XIII). Die b-Form ver-

Tabelle XIII.

Immunsera	437 Ms 2	437 Ms 2	437 Ms 2	1280 Ms 34	1280 Ms 34	1280 Ms 34	1718 Chol. s.	1718 Chol. s.	1718 Chol. s.
absorbiert mit		Sasaki a-Form	Sasaki b-Form		Sasaki a-Form	Sasaki b-Form		Sasaki a-Form	b-Form Sasaki
Bakterien									
Sasaki a-Form	5000	100 —	1000	200	100 —	100 —	10000 ±	100 —	200
Sasaki b-Form	5000	100 —	100 —	2000	100 —	100 —	100 —	100 —	100 —
Pb 1	5000	100 —	1000	100	100 —	100 —	2000	100 —	500
Pb 37	200	100 —	100 —	100	100 —	100 —	100	100 —	100 —
Ms 2	20 000	2000	1000	5000	100 —	100 —	2000	100 —	500
Ms 34	20 000	2000	100 —	5000	100 —	100 —	100 —	100 —	100 —
Cholera suis	10 000			100 —	100 —	100 —	10 000	100 —	2000

hielt sich Paratyphus B-Bazillen gegenüber so, daß sie zu beiden Bakterien keine Beziehung hat; Hogcholerabazillen gegenüber war das Verhalten genau so, wie Paratyphus B-Bazillen gegenüber. Mäusetyphusbazillen gegenüber zeigte die b-Form einseitige Beziehung, so daß die spezifischen Agglutinine im b-Form-Serum vom Ms 2 total, umgekehrt die spezifischen Agglutinine im Ms 2-Serum von b-Form-Bazillen nicht weggenommen wurden. Dagegen zeigte sie Ms 34 gegenüber beiderseitige Beziehungen, so daß die spezifischen Agglutinine der beiden Bakterien gegenseitig total absorbiert werden können (Tab. XI und XIII). Aus diesem Ergebnis kann man leicht entnehmen, daß die a-Form zu Mäusetyphus- und Hogcholerabazillen einseitige nahe Beziehungen, die b-Form dagegen zu einem Typus Mäusetyphusbazillen halbseitige und zu dem anderen Typus doppelseitige nahe Beziehung haben. Infolgedessen scheint zunächst die b-Form mit dem einen Typus

Mäusetyphusbazillen, nämlich Ms 34, ganz identisch zu sein. Doch kann diese Annahme nicht ganz richtig sein, weil sich der Stamm der b-Form und der andere Typus der Mäusetyphusbazillen, Ms 2, absorptorisch nicht gleich verhielten. Falls die b-Form wirklich mit Ms 34 identisch sein sollte, so muß sie mit dem anderen Typus der Mäusetyphusbazillen, Ms 2, absorptorisch identisch sein, weil Ms 34 und Ms 2 absorptorisch als ganz identisch erwiesen werden können.

Schlußbetrachtung.

Nach allen obigen Ergebnissen kann man wohl annehmen, daß unser Stamm zu dauernder Neubildung zweier Variationen geneigt ist. Die eine Variante zeigt sich ganz ähnlich den Hogcholerabazillen wie der Originalstamm, so daß sie einerseits Paratyphus B-, andererseits Mäusetyphusbazillen nahe Beziehungen zueinander haben. Dagegen verhält sich die andere Variante stark davon abweichend, da sie sich als mit Mäusetyphusbazillen am nächsten verwandt erwies, während sie sich mit Hogcholerabazillen und Paratyphus B-Bazillen wenig verwandt zeigt. Dabei muß bemerkt werden, daß die beiden Varianten gegenseitig so differenziert sind, daß die a-Form der b-Form gegenüber Doppelrezeptoren enthält.

Der Varianten der Bakterien, welche in Europa beobachtet worden waren, sind auch 2, von denen die eine im Paratyphus B-Stamm gut, die andere schlecht agglutinabel ist. Doch scheinen sie von unseren ganz differenziert zu sein, weil sie immer im Hogcholeraserum sehr stark beeinflußt wurden. Zwar sieht unsere eine Variante, ihre Beziehung zu den Mäusetyphusbazillen ausgenommen, so aus wie die europäischen Stämme. Aber unsere andere Variante muß von der europäischen ganz differenziert sein, weil sie weder zu Paratyphus B-, noch zu Hogcholerabazillen Verwandtschaft besitzt, sondern nur mit Mäusetyphus sehr nahe, und zwar so nahe verwandt ist, daß beide Bakterien schwer differenziert werden können. Hier muß noch bemerkt werden, daß ich noch nicht sicher entscheiden kann, ob unser Originalstamm mit den europäischen Stämmen identisch ist, weil man in Europa ihre Beziehungen zu den Mäusetyphusbazillen gar nicht geprüft hat.

Literatur.

1) Neukirch, P., Berl. klin. Wochenschr. 1917. S. 360. — 2) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 85. 1918. S. 103. — 3) Weil u. Saxal, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 519. — 4) Weil, Ibid. 1917. S. 1061. — 5) Kaunitz u. Trawinski, Ibid. 1917. S. 1098. — 6) Hirschfeld, Lancet. Vol. 22. 1919. p. 296. — 7) Mac Adam, W., Ibid. Vol. 2. 1919. p. 189. — 8) Mackie a. Brown, Journ. Royal Arm. Med. Corp. Vol. 33. 1919. p. 154. — 9) Andrewes, F. W., a. Neave, S., Brit. Journ. Exper. Pathol. Vol. 2. 1921. p. 157. — 10) Tenbroek, Journ. Exp. Med. Vol. 32. 1920. p. 33. — 11) Furth, Ztschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 35. 1922. S. 155. — 12) Maruyama, Taiwan-Igakukai Zasshi. (Japan.) Vol. 107. 1911. p. 758. — 13) Ishihara, Kenbikyo-Gakukai Zasshi. (Japan.) Vol. 24. 1917. p. 1. — 14) Aoki u. Konno, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 139.

Ueber Paratyphus C.

I. Mitteilung: Ueber die agglutinatorischen Beziehungen des Paratyphus C (Hirschfeld) einerseits und des atypischen Paratyphus A (Aoki) und der Hogcholerabazillen andererseits.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Sendai (Direktor: Professor K. Aoki).]

Von Dr. **T. Hayashi.**

Während des Weltkrieges wurde eine Bakterienart einerseits von deutschen Forschern (Neukirch, Weil, Sachsa, Kannitz, Trawanski u. a.), andererseits von englichen Forschern (Hirschfeld, Andrews, Neave, Mac Adam, Brown u. a.) bei Kranken nachgewiesen, welche entweder typhöse, septikämische oder dysenterische Erscheinungen zeigten. Diese Mikroben verhielten sich sowohl mikroskopisch als auch kulturell genau so wie Paratyphus B-Gruppe-Bazillen. Doch wurde dabei immer beobachtet, daß sie in Hogcholeraseren so stark agglutinierten, daß man sie dadurch manchmal von den Hogcholerabazillen nicht unterscheiden konnte. Sie wurden von Weil Paratyphus β, von Hirschfeld Paratyphus C genannt. Bei uns in Japan wurde auch bei typhös erkrankten Menschen eine Art Paratyphusbazillen einerseits von Shomojo, andererseits von Aoki und seinen Schülern nachgewiesen. Sie waren mit Hogcholerabazillen ebenfalls so nahe verwandt, daß sie in Hogcholeraseris sehr stark, fast bis zum Titer agglutinierten, umgekehrt Hogcholerabazillen im Serum von unseren Bazillen ebenfalls so stark wie homologe Bazillen beeinflußt wurden. Sie wurden von mir atypische Paratyphus A-Bazillen genannt, weil sie mit den Paratyphus A-Bazillen so nahe verwandt sind, daß man sie manchmal, selbst agglutinatorisch, gegenseitig nicht unterscheiden kann.

Da ein Stamm Paratyphus C von Ten Broeck in Peking uns freundlicherweise zugesandt worden war, wurde beschlossen, die Beziehungen zwischen diesen 3 Stämmen, nämlich dem atypischen Paratyphus A- (P. A. I), Paratyphus C- und Hogcholera-Bazillen nach unserem Verfahren zu untersuchen. Da aber die Beziehungen zwischen atypischen Paratyphus A- und Hogcholerabazillen schon von Aoki und Sakai genau auseinandergesetzt worden sind, möchte ich hier zuerst die Beziehungen zwischen Paratyphus C- und atypischen Paratyphus A-Bazillen, und diejenigen zwischen Paratyphus C- und Hogcholera-Bazillen auseinandersetzen.

Aoki und Sakai konnten nämlich feststellen, daß die beiden Bakterien gegenseitig so stark agglutinierten, daß man sie agglutinatorisch nicht unterscheiden konnte. Wenn aber dabei typisches Paratyphus A-Serum zur Anwendung gebracht wurde, so agglutinierten atypische Paratyphus A-Bazillen darin bis zum Titer, während Hogcholerabazillen darin nicht reagierten. Typische Paratyphus A-Bazillen agglutinierten in atypischem Paratyphus A-Serum bis zum Titer, aber im Hogcholeraserum gar nicht. Durch dieses gegenseitige agglutina-

torische Verhalten kann man sich vorstellen, daß die beiden Bakterien ganz verschieden voneinander sind.

I. Beziehungen der Paratyphus C-Bazillen zu den atypischen Paratyphus A-Bazillen.

Die beiden Bazillen wurden zuerst in unseren repräsentierenden Seren agglutinatorisch geprüft. Dies waren im ganzen 11 Sera: 2 Paratyphus B-, 2 Mäusetyphus-, 2 Paratyphus A-, 1 Hogcholeraserum, 2 Gärtner-Sera, 1 Abortus equi und noch ein übriges Typhusserum. Es ergab sich, daß beide Bakterien in atypischem Paratyphus A-Serum und Hogcholeraserum bis zum Titer agglutinierten, so daß sie, wenn sie nur in diesen Seren geprüft worden wären, als gleichartig hätten gelten können. Aber Hirschfeldsche Bazillen reagierten in den übrigen Seris fast gar nicht, während atypische Paratyphus A-Bazillen in vielen Seren bis zu gewissem Grade, und zwar in typischem Paratyphus A-Serum bis zum Titer agglutinierten. Durch dieses Verhalten konnte man die beiden Bakterien schon deutlich unterscheiden (Tabelle I).

Tabelle I.

Name der Sera	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{17}	Ms	Ms_{84}	Hog.	E. G.$_{3}$	E.G.$_{18}$	Ab.eq.
Titer der Aggl.	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
Name d. Stämme											
P. C	—	10 000	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—
P. A I.	1000	10 000	10 000	1000	—	1000	—	10 000	—	—	—

Nun wurden ferner die Sera mit Hirschfeldschen Bazillen bei Kaninchen frisch hergestellt, und darin agglutinierten atypische Paratyphus A-Bazillen bis zum Titer. Ebenso stark reagierten Hogcholerabazillen darin, aber typische Paratyphus A-Bazillen dann gar nicht oder nur ganz schwach (Tabelle II). Im Serum von atypischen Paratyphus A-Bazillen reagierten außerdem typische Paratyphus A-

Tabelle II.

Name der Sera	P. c	P. A I
Titer der Agglut.	10 000	10 000
Bakterien		
P. C	10 000	10 000
P. A I	10 000	10 000
P. A	—	10 000
Hog	10 000	10 000
P. B	—	1 000
P. B_{37}	—	—
Ms	—	1 000
Ms_{84}	—	—

Bazillen bis zum Titer. Ein Stamm von Paratyphus B- und Mäusetyphus-Bazillen reagierten bis zu einem gewissen Grade.

Dieses agglutinatorische Verhalten konnte ich während der Immunisierung der Kaninchen nachweisen. 2 Kaninchen wurden nämlich mit Paratyphus C-Bazillen 5mal mit steigenden Dosen vorbehandelt. Vor

jeder Einspritzung der Bakterien wurde eine kleine Blutprobe von den Ohrvenen abgenommen. Darin wurden sowohl homologe Paratyphus C-Bazillen, als auch heterologe Hogcholerabazillen, atypische und typische Paratyphus A-Bazillen agglutiniert. Das agglutinatorische Verhalten der heterologen Bakterien den homologen gegenüber wurde so ausgedrückt, daß der Titer der ersteren Bazillen mit dem Titer der letzteren dividiert wurde. Nach diesem Index sollten die verwandtschaftlichen Beziehungen der beiden Bakterienarten beurteilt werden können. Falls nämlich der Wert des Index, welcher sich dabei herausstellte, immer so groß wie $^1/_1$ blieb, sollte angenommen werden, daß die beiden Bakterien miteinander sehr nahe verwandt oder identisch waren, wie Aoki und seine Schüler festgestellt haben. Wie aus Tabelle III zu ersehen ist, ergab sich, daß Paratyphus C-Bazillen

Tabelle III.

Mal d. Vorb.	I	II	III	IV	V
Agglut.-Index					
$\frac{P.\ C}{P.\ C}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
$\frac{P.\ A\,I}{P.\ C}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$
$\frac{P.\ A}{P.\ C}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$

mit atypischen Paratyphus A-Bazillen nahe verwandt, aber von den typischen Paratyphus A-Bazillen sehr verschieden sind, wie dies auch mit den Hogcholerabazillen der Fall war.

Wie verhalten sie sich aber absorptorisch anderen Bazillen gegenüber? Zuerst wurde das Serum atypischer Paratyphus A-Bazillen von den Paratyphus C-Bazillen absorbiert. In diesem Serum agglutinierten die Paratyphus B-Bazillen nicht mehr, aber die atypischen Paratyphus A-Bazillen reagierten ebenso gut wie vorher. Wenn umgekehrt das Serum der Paratyphus C-Bazillen von atypischen Paratyphus A-Bazillen absorbiert wurde, so agglutinierten diese Bazillen nicht mehr, dagegen agglutinierten Paratyphus C-Bazillen ebenso gut wie vorher (Tab. IV).

Tabelle IV.

Serum	P. A I		P. C	
Behandlung	Vor der Absorption	Nach der Absorption von P. C	Vor der Absorption	Nach der Absorption von P. A I
Bakterien				
P. A I	10 000	5000	10 000	—
P. C	10 000	—	10 000	10 000
P. A	10 000	5000	—	—

Durch die obigen Versuche wurde sicher nachgewiesen, daß Paratyphus C-Bazillen mit atypischen Paratyphus A-Bazillen einerseits nahe verwandt sind, sich andererseits aber sehr stark von ihnen unterscheiden.

II. Beziehungen der Paratyphus C-Bazillen zu den Hogcholerabazillen.

Da bei den obigen Versuchen festgestellt worden war, daß Paratyphus C-Bazillen sich den atypischen Paratyphus A-Bazillen gegenüber so verhalten wie Hogcholerabazillen den atypischen Paratyphus A-Bazillen gegenüber, so scheint es möglich, daß die Paratyphus C-Bazillen mit den Hogcholerabazillen identisch sind. Besonders scheint diese Annahme richtig zu sein, weil es Ten Broeck schon nachzuweisen gelungen war, daß Paratyphus C-Bazillen nichts anderes sind als Hogcholerabazillen. Seine Untersuchungen ergaben nämlich, daß die beiden Bakterien sowohl agglutinatorisch als auch absorptorisch identisch sind. Doch wurde von anderen Autoren, sowohl deutschen als auch englischen, behauptet, daß die beiden Bakterien nicht gleichartig seien.

Zuerst wurden Paratyphus C-Bazillen und Hogcholerabazillen gleichfalls in den oben angegebenen Seren geprüft (Tab. V). Dabei stellte sich

Tabelle V.

Serum	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{87}	Ms	Ms_{34}	Hog	E. $G._{8}$	E.$G._{18}$	Ab. eq.
Titer der Agglut.	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
Bakterien											
P. C.	—	10 000	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—
Hog	—	10 000	—	2000	—	2000	—	10 000	—	—	—

heraus, daß die beiden Bakterien sowohl in Hogcholeraserum als auch in atypischem Paratyphus A-Serum gleich stark bis zum Titer agglutinierten, so daß die beiden Bakterien als identisch angesehen werden konnten. Wenn man sie aber anderen Seren gegenüber genau betrachtet, scheint eine gewisse Differenz zwischen beiden Bakterien bemerkbar zu sein. Während nämlich Paratyphus C-Bazillen dem Paratyphus B- und Mäusetyphusserum gegenüber gar keine Reaktion zeigten, agglutinierten Hogcholerabazillen darin ganz deutlich und bei gewissen Seren sogar bis zum Titer. Um dieses Verhalten noch genauer festzustellen, wurden die beiden Bakterien in vielen Seren von Paratyphus B-Bazillen und Mäusetyphusbazillen agglutiniert. Dabei stellte sich heraus, daß Hogcholerabazillen in diesen Seris entschieden stärker als Paratyphus C-Bazillen reagierten.

Ferner wurde untersucht, ob alle Bazillen in dem Paratyphus C- und Hogcholeraserum agglutinierten (Tab. VI). Es ergab sich, daß

Tabelle VI.

Serum	P. C	Hog	Serum	P. C	Hog
Titer der Agglut.	10 000	10 000	Titer der Agglut.	10 000	10 000
Bakterien			Bakterien		
P. C	10 000	10 000	P. B	—	2000
Hog	10 000	10 000	P. B_{87}	—	—
P. A I	10 000	10 000	Ms	—	2000
P. A	—	—	Ms_{34}	—	—

Hogcholerabazillen und atypische Paratyphus A-Bazillen ebenso stark wie homologe Bazillen agglutinierten, aber die Stämme der Paratyphus B-Bazillen und Mäusetyphus-Bazillen gar nicht reagierten. Dem Hogcholeraserum gegenüber verhielten sich alle Bakterien im großen und ganzen gleich. Eine geringe Verschiedenheit bestand darin, daß ein Stamm von Paratyphus B- und Mäusetyphusbazillen schwach reagierte.

Während der Immunisierung von Kaninchen mit Paratyphus C-Bazillen wurden sodann die Beziehungen zwischen den Paratyphus C- und Hogcholerabazillen und atypischen Paratyphus A-Bazillen untersucht (Tab. VII). Dabei ergab sich, daß Paratyphus C-Bazillen und

Tabelle VII.

Mal d. Vorbehandl.	I	II	III	IV	V
Index der Agglut.					
$\frac{\text{P. C}}{\text{P. C}}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
$\frac{\text{Hog}}{\text{P. C}}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
$\frac{\text{P. A I}}{\text{P. C}}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
$\frac{\text{P. A}}{\text{P. C}}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$

Hogcholerabazillen sich gleichartig verhielten.

Alsdann wurden die beiden Bakterien absorptorisch untersucht. Das Hogcholeraserum wurde zuerst von Paratyphus C-Bazillen absorbiert. Darin wurden beide Bakterien agglutinatorisch geprüft und es ergab sich, daß Hogcholerabazillen, wenn auch Paratyphus C-Bazillen darin gar nicht mehr agglutinierten, doch noch bis zu einem gewissen Grade reagierten (Tab. VIII). Umgekehrt wurde das Paratyphus C-Serum von Hogcholeraserum absorbiert, in dem Paratyphus C-Bazillen bis zu einem gewissen Grade agglutinieren konnten, während Hogcholerabazillen darin nicht mehr reagierten (Tab. VIII).

Tabelle VIII.

Serum	Hog		P. C	
Behandlung	Vor der Absorption	Nach der Absorption von P. C	Vor der Absorption	Nach der Absorption von Hog
Bakterien				
Hog	10 000	1000	10 000	200
P. c	10 000	—	10 000	—
P. A I	10 000	—	10 000	—

Nach den obigen Resultaten war die Annahme gerechtfertigt, daß die Paratyphus C-Bazillen mit den Hogcholerabazillen zwar sehr nahe verwandt sind, sich aber etwas von ihnen unterscheiden.

Schlußfolgerung.

Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld) verhalten sich atypischen Paratyphus A-Bazillen (Aoki) gegenüber wie Hogcholerabazillen

atypischen Paratyphus A-Bazillen gegenüber. Doch scheinen Paratyphus C-Bazillen mit Hogcholerabazillen, im Gegensatz zu der Ansicht von Ten Broeck, nicht ganz identisch zu sein, weil die beiden Bakterien nicht in allen Punkten übereinstimmen. Die Differenz der Resultate von Ten Broeck und mir soll in der nächsten Mitteilung erklärt werden.

Literatur.

1) Neukirch, P., Berl. klin. Wochenschr. 1917. S. 360. — 2) Ders., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 85. 1918. S. 103. — 3) Weil u. Saxl, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 519. — 4) Weil, Ibid. 1917. S. 1061. — 5) Kaunitz u. Trawinski, Ibid. 1917. S. 1098. — 6) Hirschfeld, Lancet. 1919. 22. Febr. p. 296. — 7) Mac Adam, W., Ibid. 1919. 2. Aug. p. 189. — 8) Mackie a. Brown, Journ. Roy. Arm. Med. Corp. Vol. 33. 1919. p. 154. — 9) Andrewes, F. W., a. Neave, S., Brit. Journ. exper. Pathol. 1921. p. 157. — 10) Ten Broeck, Journ. exper. Med. Vol. 32. 1921. p. 33. — 11) Maryama, Taiwan-Igakukai Zasshi, 1911. p. 107. (japanisch.) — 12) Aoki u. Konno, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 139. — 13) Shmojo, Csei Gaku Zashi. Vol. 17. 1922. p. 223 (japanisch). — 14) Aoki u. a., Tohoku Journ. exper. Med. Vol. 5. 1925. p. 452. — 15) Ders. u. Sakai, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 152. — 16) Ders. u. Konno, Ibid. Bd. 86. 1921. S. 139.

Ueber Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld).

II. Mitteilung: Ueber die Variationserscheinungen der Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld).

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von Dr. **T. Hayashi.**

In der 1. Mitteilung wurde festgestellt, daß Paratyphus C-Bazillen insofern von Hogcholerabazillen verschieden sind, als sie einerseits in Paratyphus B-Serum und Mäusetyphusserum nicht reagieren und sich ferner absorptorisch nicht gleichartig verhalten. Paratyphus C-Bazillen konnten nämlich die Rezeptoren von Hogcholerabazillen nicht ganz wegnehmen; ebenso konnten Hogcholerabazillen die Rezeptoren von Paratyphus C-Bazillen nicht völlig erschöpfen. Andererseits wurde aber von Ten Broeck schon mitgeteilt, daß beide Bakterien identisch seien; er konnte nämlich ihre Identität sowohl agglutinatorisch als auch absorptorisch nachweisen. Woran soll nun die Differenz liegen? Da schon einerseits bei diesen Bakterien von vielen Forschern darauf aufmerksam gemacht worden war, daß sie Paratyphus B-Serum gegenüber stark variieren können, schien es immer noch möglich, daß die Differenz aus diesem Grunde zustande gekommen war. Unter dieser Vermutung wurden die Variationserscheinungen dieser Bazillen genau untersucht. Wie wir immer in unserem Institut zu tun pflegen, wurden sie zuerst durch Plattenverfahren in Kolonien isoliert. Ueber 100 gut isolierte Kolonien wurden

zuerst als Reinkultur gezüchtet und gleich darauf sowohl in Paratyphus B-Serum als auch in Mäusetyphusserum agglutinatorisch geprüft. Dabei ergab sich, daß über die Hälfte der Kolonien in diesen Sera ziemlich stark, die übrigen dagegen darin gar nicht reagierten. Ferner wurden sie noch in anderen Sera, nämlich Hogcholeraserum und atypischem Paratyphus A-Serum geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß die Kolonien, welche in Paratyphus B- und Mäusetyphusserum stark agglutinierten, in diesen Sera sehr stark, fast bis zum Titer, reagierten; dagegen blieben die anderen Kolonien, welche in Paratyphus B- und Mäusetyphusserum fast nicht reagiert hatten, auch in atypischem Paratyphus A-Serum reaktionslos, während sie in Hogcholeraserum bis zum Titer agglutinierten. Der Bequemlichkeit halber wurde die erstere Kolonie die „A-Form“, die letztere die „B-Form“ genannt. Ferner wurden diese beiden Formen in denselben repräsentierenden Sera, mit denen ich bei der 1. Mitteilung gearbeitet habe, genau untersucht. Es stellte sich dabei heraus, daß die A-Form sich den Hogcholerabazillen ähnlich verhielt, hingegen die B-Form davon abweichende Bazillen darstellte. Die A-Form agglutinierte nämlich sowohl in Hogcholeraserum als auch in atypischem Paratyphus A-Serum bis zum Titer, außerdem in einem der Paratyphus- und Mäusetyphussera ziemlich stark, wie dies auch bei den Hogcholerabazillen der Fall war. Dagegen reagierte die B-Form nur im Hogcholeraserum bis zum Titer, in anderen Sera aber fast gar nicht (Tab. I).

Tabelle I.

Serum	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{87}	Ms	Ms_{84}	Hog	E. $G._{8}$	E. $G._{18}$	Ab. eq.
Titer der Agglut.	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
Bakterien											
P. c a	—	10 000	—	2000	—	2000	—	20 000	—	—	—
P. c b	—	—	—	—	—	—	—	20 000	—	—	—

Ferner wurde untersucht, ob 1) die beiden Formen doch identisch seien, 2) welche von den beiden mit Hogcholerabazillen identisch sei.

Einige Kaninchen wurden mit der A-Form, andere mit der B-Form in 5mal steigenden Dosen vorbehandelt. Vor jeder Vorbehandlung wurde eine Blutprobe abgenommen und auf den Agglutinationstiter hin untersucht. Wie aus Tabelle II ersichtlich, stellte sich dabei heraus, daß

Tabelle II.

Mal der Vorbeh.	I	II	III	IV	V
Agglut.-Index					
$\frac{P.\ c\ c}{P.\ c\ a}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$
$\frac{P.\ c\ a}{P.\ c\ b}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{20}$

beide Formen nicht identisch sind, denn der dabei bestimmte agglutinatorische Index, welcher in der 1. Mitteilung angegeben wurde, erwies sich bei diesen Stämmen immer viel kleiner als $^{1}/_{1}$. Ferner wurden die

beiden Formen absorptorisch untersucht, wobei sich ergab, daß beide Rezeptoren gegenseitig nicht absorbiert werden konnten (Tab. III).

Tabelle III.

Serum	P. b a		P. b b	
Behandlung	Vor der Absorption	Nach der Absorption von P. C b	Vor der Absorption	Nach der Absorption von P. C a
Bakterien				
P. c a	10 000	1000	500	—
P. c b	1 000	—	10 000	2000

Ferner wurde untersucht, welche von den beiden Formen mit Hogcholerabazillen identisch sei. Während der Immunisierung der Kaninchen mit diesen 2 Formen wurden sie einerseits auf Hogcholerabazillen, andererseits auf atypische Paratyphus A-Bazillen hin wie oben untersucht, mit dem Ergebnis, daß die A-Form sich den Hogcholerabazillen gleichartiger zeigte, weil der agglutinatorische Index sich bei den Hogcholerabazillen und atypischen Paratyphus A-Bazillen fast immer so groß wie $^1/_1$ zeigte, wie dies auch mit den Hogcholerabazillen der Fall war (Tab. IV). Die B-Form dagegen scheint von den Hog-

Tabelle IV.

Mal der Vorbeh.	I	II	III	IV	V
Agglut.-Index					
Hog. / P. c a	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
P. A I / P. c a	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$

cholerabazillen zu differieren, obwohl der Index diesen Bazillen gegenüber immer $^1/_1$ war; nämlich atypische Paratyphus A-Bazillen reagierten im Serum der B-Form fast gar nicht, so daß der agglutinatorische Index sich dabei immer viel kleiner als $^1/_1$ erwies (Tab. V).

Tabelle V.

Mal der Vorbeh.	I	II	III	IV	V
Agglut.-Index					
Hog / P. c b	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
P. A I / P. c b	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$

Nach diesen Ergebnissen war wohl anzunehmen, daß der Unterschied der Resultate von Ten Broecke und mir dadurch hervorgerufen war, daß Ten Broecke zufällig mit der reinen A-Form gearbeitet hatte, der Stamm bei mir dagegen in gemischtem Zustande gewesen war.

Wie verhalten sich nun die beiden Formen absorptorisch den Hogcholerabazillen gegenüber? Merkwürdigerweise stellte sich dabei her-

aus, daß beide Formen Hogcholerabazillen gegenüber absorptorisch fast ganz gleich reagierten. Dennoch konnte keine der beiden Formen als mit Hogcholerabazillen absorptorisch identisch festgestellt werden (Tab. 6). In Anbetracht dieser Resultate muß angenommen werden, daß

Tabelle VI.

Sera	Hog			P. c a		P. c b	
Vorbehandlung	Vor der Absorpt.	Nach der Absorpt. von P. c a	Nach der Absorpt. von P. c b	Vor der Absorpt.	Nach der Absorpt. von Hog	Vor der Absorpt.	Nach der Absorpt. von Hog
Bakterien							
P. c a	5 000	—	—	10 000	—	200	—
P. c b	5 000	500	—	2 000	—	10 000	—
Hog.	10 000	2000	5000	10 000	—	10 000	—

das Resultat von Ten Broeck bei mir leider nicht ganz nachweisbar ist, doch glaube ich mit Sicherheit, daß beide Resultate sich immer mehr einander nähern, so daß irgendeine Uebereinstimmung später nachgewiesen werden kann. Die beiden Resultate könnten sogar schon als übereinstimmend angesehen werden, wenn man annehmen würde, daß das agglutinatorische Verhalten der Bakterien mit ihrem absorptorischen nicht immer übereinstimmend wäre, so daß man beide Eigenschaften isoliert betrachten müßte, wie ich schon oben erwähnt habe.

Hier möchte ich noch erklären, welche von den beiden Formen die originalen Paratyphus C-Bazillen darstellt. Da einerseits von vielen Forschern beobachtet worden war, daß die Stämme der Paratyphus C-Bazillen, welche im Anfangsstadium der Krankheit im Blute nachgewiesen waren, im Paratyphus B-Serum nicht reagierten, waren Andrews und Neave der Meinung, daß der im Paratyphus B-Serum nicht agglutinierende Stamm ein reiner Stamm sei. Nach meinem Resultat mußte auch die B-Form als ein originaler reiner Stamm betrachtet werden, weil die A-Form sich zu stark den Hogcholerabazillen nähert, so daß sie sich agglutinatorisch nicht von ihnen unterscheiden läßt. Dann müßte die reine Form von Andrews und Neave mit unserer B-Form übereinstimmen. Diese B-Form scheint mir insofern sehr interessant zu sein, als bei ihr ein reiner repräsentierender Stamm von Bakterien nachgewiesen worden ist, welcher zu Hogcholerabazillen gehören und mit ihnen und atypischen Paratyphus A-Bazillen eine Gruppe bilden kann.

Ueber Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld).

III. Mitteilung: Ueber einen atypischen Paratyphusbazillenstamm, welcher in Japan nachgewiesen war.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität zu Sendai (Direktor: Prof. Dr. K. Aoki).]

Von Dr. T. Hayashi.

Wie schon in der I. Mitteilung referiert worden war, wurde eine Art Paratyphusbazillen bei einigen Fieberkranken während des Weltkrieges nachgewiesen, die sich Hogcholerabazillen gegenüber so verhielten, daß sie gegenseitig schwer differenzierbar waren. Sie wurden meistens in Kleinasien, in der Türkei, in Südrußland und der Balkangegend gefunden, doch waren diese Bazillen bei uns in Japan bis jetzt unbekannt geblieben. Neulich wurde mir von Herrn Prof. Aoki eine Mitteilung „über unbekannte Bakterien bei typhösen Erkrankungen" gegeben, welche 1909 von Maruyama in Hormosa publiziert worden war.

Darin wurde schon angegeben, daß die gefundenen Bakterien in Hogcholeraserum sehr gut, ja sogar bis zum Titer, aber in Paratyphus B- und Mäusetyphusserum fast gar nicht agglutinierten. Dabei fiel mir ein, daß diese Bazillen, welche von Maruyama schon vor 17 Jahren nachgewiesen worden waren, mit den anderen, oben zitierten identisch sein könnten.

Auf diese Vermutung hin baten wir uns diesen Stamm von Maruyama aus, der ihn uns freundlichst zugeschickt hat, wofür ich ihm hier meinen verbindlichsten Dank ausspreche. Der Stamm wurde zuerst gereinigt, dann mikroskopisch und kulturell untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß er zu der Gruppe der Paratyphus B-Bazillen gehört. Dann wurde er nach unserer Methode in den 11 repräsentierenden Seren agglutinatorisch geprüft, die ich in der 1. Mitteilung beschrieben habe. Dabei ergab sich, daß der Stamm sich diesen Seren gegenüber genau so verhielt wie die Paratyphus C-Bazillen (Tab. I).

Tabelle I.

Serum	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{37}	Ms	Ms_{14}	Hog.	E. $G._3$	E. $G._{18}$	Ab. eq.
Titer d. Aggl.	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	5000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000
Bakterien											
Maruyama	—	10 000	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—
Hirschfeld	—	10 000	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—

Im nächsten Versuche wurden Immunsera von diesen Stämmen bei Kaninchen hergestellt. Letztere wurden nämlich mit steigenden Dosen dieser Bazillen 4mal vorbehandelt, wodurch ganz leicht Sera hergestellt werden konnten, welche bis 1:20 000 stark agglutinierten. In diesen Seris wurden Bakterien geprüft, mit deren Seren der Stamm

Maruyama geprüft worden war. Dann wurden dieselben Stämme auch in Paratyphus C-Serum untersucht. Dabei ergab sich, daß in beiden Seris dieselben Stämme auf gleiche Weise agglutinieren können (Tab. II).

Tabelle II.

Serum	Maruyama	Hirschfeld
Titer der Agglut.	10 000	10 000
Bakterien		
Ty	—	—
P. A I	10 000	10 000
P. A	—	—
P. B	—	—
P. B_{37}	—	—
Ms	—	—
Ms_{84}	—	—
Hog	10 000	10 000
E. G_3	—	—
E. G_{18}	—	—
Ab. eq.	—	—

Darauf wurde der Stamm Maruyama mit Paratyphus C-Bazillen während der Immunisierung der Kaninchen verglichen, wobei wie in der 1. Mitteilung verfahren wurde (Tab. III). Nach dem Ergebnis

Tabelle III.

Mal d. Vorbeh.	I	II	III	IV	V
Agglut. Index					
$\frac{\text{Hirschfeld}}{\text{Maruyama}}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$
$\frac{\text{Hog}}{\text{Maruyama}}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$

konnte ich annehmen, daß der Stamm Maruyama mit dem Stamm Hirschfeld identisch sei. Ein dann ausgeführter Absorptionsversuch mit dem Stamm Maruyama den Paratyphus C-Bazillen gegenüber führte dann zu der Annahme, daß der Stamm Maruyama mit den Paratyphus C-Bazillen ganz identisch ist (Tab. IV).

Tabelle IV.

Serum	Hirschfeld		Maruyama	
Vorbehandlung	Vor der Absorption	Nach der Absorption von Maruyama	Vor der Absorption	Nach der Absorption von Hirschfeld
Bakterien				
Hirschfeld	10 000	—	10 000	—
Maruyama	10 000	—	10 000	—

Zum Schlusse wurden Variationserscheinungen bei diesem Stamme studiert, wobei er durch das Plattenverfahren in Kolonien zerlegt wurde. 100 gut isolierte Kolonien wurden sowohl im eigenen Serum als auch im Paratyphus B- und Mäusetyphusserum geprüft, mit dem Ergebnis

einer wenig abweichenden Form. Diese Form war die, welche im Paratyphus B- und Mäusetyphusserum stark agglutinieren kann, weshalb sie als die A-Form von Hirschfeld angesehen werden mußte. Die andere Form, welche zahlreich dabei nachgewiesen worden war, agglutinierte im Serum von Paratyphus B und Mäusetyphus gar nicht, weshalb sie als die B-Form von Hirschfeld betrachtet werden mußte. Infolgedessen wurden diese beiden Formen zuerst miteinander, dann mit den beiden Formen der Hirschfeldschen Bazillen verglichen.

Zuerst wurden sie in den 11 repräsentierenden Seren geprüft (Tab. V), wobei sich ergab, daß beide Formen in 3 Seris, nämlich im

Tabelle V.

Serum	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{87}	Ms	Ms_{34}	Hog	E. G.	E. G.	Ab. eq.
Titer der Agglut.	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
Bakterien											
Maruyama a	—	10 000	—	10 000	—	1000	—	10 000	—	—	—
Maruyama b	—	—	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—

atypischen Paratyphus A-Serum, dem Paratyphus B- und Mäusetyphusserum voneinander verschieden waren. Die A-Form reagierte nämlich im atypischen Paratyphus A-Serum sehr stark bis zum Titer, während die B-Form dies darin gar nicht tat. Ferner wurde untersucht, ob sich dieser Unterschied auch bei der Immunisierung der Kaninchen bei beiden Stämmen zeigen würde. Die Tiere wurden in gleicher Weise mit den beiden Bakterien 4mal, wie oben, vorbehandelt. Wie aus Tabelle VI ersichtlich ist, war der Unterschied zwischen beiden Formen

Tabelle VI.

Mal d. Vorbehandl.	I	II	III	IV
Index der Agglut.				
Maruyama b / Maruyama a	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$
Maruyama a / Maruyama b	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$

ein so deutlicher, daß der agglutinatorische Index, welcher während der 4maligen Vorbehandlung festgestellt worden war, sich immer viel kleiner als $^1/_1$ zeigte. Auch absorptorisch konnte diese Differenz der beiden Formen nachgewiesen werden (Tab. VII).

Tabelle VII.

Sera	Maruyama a		Maruyama b	
	Vor der Absorption	Nach der Absorption b	**Vor der Absorption**	**Nach der Absorption a**
Bakterien				
Maruyama a	10 000	5000	100	—
Maruyama b	100	—	5000	1000

Nun wurden beide Formen mit den beiden Formen der Paratyphus C-Bazillen verglichen, und zwar wurde zuerst die A-Form von

Maruyama mit der A-Form von Hirschfeld verglichen, die sich beide allen Seris gegenüber agglutinatorisch ganz gleich verhielten (Tab. VIII), wie sie sich auch immunisatorisch ganz gleich (Tab. IX).

Tabelle VIII.

Sera	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{17}	Ms	Ms_{84}	Hog	E. G.	E. $G._1$	Ab.eq.
Bakterien											
Maruyama a	—	10 000	—	1000	—	1000	—	10 000	—	—	—
Hirschfeld a	—	10 000	--	1000	—	1000	—	10 000	—	—	—

Tabelle IX.

Mal d. Vorbeh.	I	II	III	IV	V
Aggl.-Index					
Hirschfeld a / Maruyama a	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
Maruyama a / Hirschfeld a	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1

wie auch absorptorisch erwiesen (Tab. X). Zum Schlusse wurden die beiden B-Formen in gleicher Weise verglichen (Tab. XI, XII und

Tabelle X.

Sera	Hirschfeld a		Maruyama a	
	Vor der Absorption	Nach der Absorption Maruyama	Vor der Absorption	Nach der Absorption Hirschfeld
Bakterien				
Hirschfeld a	10 000	—	10 000	—
Maruyama a	10 000	—	10 000	—

Tabelle XI.

Sera	Ty	P. A I	P. A	P. B	P. B_{37}	Ms	Ms_{84}	Hog	E. $G._3$	E. $G._{19}$	Ab.eq.
Bakterien											
Maruyama b	—	—	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—
Hirschfeld b	—	—	—	—	—	—	—	10 000	—	—	—

Tabelle XII.

Mal d. Vorbeh.	I	II	III	IV	V
Aggl.-Index					
Hirschfeld b / Maruyama b	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
Maruyama b / Hirschfeld b	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1

XIII). Wie aus diesen 3 Tabellen ersichtlich, zeigte es sich, daß die beiden Formen identisch sind. Die obigen eingehenden Untersuchungen

Tabelle XIII.

Sera	Maruyama b		Hirschfeld b	
	Vor der Absorption	Nach der Absorption Hirschfeld	Vor der Absorption	Nach der Absorption Maruyama
Bakterien				
Maruyama b	10 000	—	10 000	—
Hirschfeld b	10 000	—	10 000	—

ergaben demnach eine völlige Uebereinstimmung des Stammes Maruyama mit dem Stamm Hirschfeld. Daraus ist zu schließen, daß der Stamm Paratyphus C Hirschfeld, welcher 1917 zuerst von Neukirch nachgewiesen wurde, 8 Jahre vorher schon in Japan erkannt worden ist.

Nachdruck verboten.

Weiterer Beitrag zur Frage der Einheit der Pneumokokken und Streptokokken.

[Aus der Abteilung für Chemotherapie des Instituts Robert Koch.]

Von **Br. Engelmann.**

In einer früheren Mitteilung (1), in der über das Auftreten von Modifikationen der Pneumokokken im Verlaufe der Pneumonie berichtet und insbesondere das Vorkommen der Modifikation A und ihr Uebergang in die dem grünen Streptokokkus entsprechende Modifikation B erörtert wurde, hatten Berger und Engelmann auch einen Fall beschrieben, in dem ein hämolytischer Streptokokkus aus pneumonischem Sputum über den grünen Streptokokkus in einen echten Pneumokokkus überging. Aehnliche Beobachtungen hatten Kuczynski und Wolff (2) früher mitgeteilt: Es findet unter Umständen eine Anpassung avirulenter grüner Streptokokken an den Mäuseorganismus statt und damit ist die Erwerbung der pathogenen und kulturellen Merkmale des Pneumokokkus verbunden (3).

Im folgenden sei eine weitere Beobachtung über die Abspaltung von Pneumokokken aus einem hämolytischen Streptokokkus wiedergegeben. Uns erscheint die Mitteilung selbst einer einzelnen Beobachtung trotz ihres kasuistischen Charakters deshalb wichtig, weil die experimentelle Umwandlung des hämolytischen Streptokokkus zum echten Pneumokokkus bisher noch nicht gelungen ist. Die in den Studien Morgenroths und seiner Mitarbeiter beschriebenen Rückschläge von der hämolytischen Form C zur Stammform des Pneumokokkus beziehen sich nur auf von echten Pneumokokken experimentell abgespaltene hämolytische Stämme.

Am 23. 6. 25 ging der Abteilung durch die Freundlichkeit von Herrn San. Rat Dr. Wassermann der Kieferhöhleneiter eines 13jährigen Knaben zu, der seit zwei Jahren an rezidivierenden Fieberattacken, Kopfschmerzen und Mattigkeit litt. Gelegentlich soll Albuminurie vorhanden gewesen sein. Die rhinologische Untersuchung ergab ein doppelseitiges Kieferhöhlenempyem.

Aus dem flockigen Eiter wurde ein hämolytischer Streptokokkus (Stamm Nr. 56) in Reinkultur gezüchtet. Er wuchs in Serumbouillon klar mit flockigem Bodensatz, auf Blutagar bildete er zarte Kolonien mit breiten hämolytischen Höfen. Das Präparat zeigte lange gewundene Ketten von 50—100 und mehr Gliedern, aus runden Einzelindividuen bestehend.

Der Stamm wurde in den folgenden Tagen auf Blutagar und in Serumbouillon fortgezüchtet und erwies sich auch bei fraktionierter Aussat als rein hämolytisch.

Am 4. 7. wurde eine Einstellung bei subkutaner Infektion an weißen Mäusen vorgenommen. Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Tabelle I.
Einstellung vom 4. 7. mit 24-stünd. Serumbouillonkultur des Str. 56.

Maus Nr.	Infektion subkutan, Bauch	Tod	Auf Blutagar		Bemerkungen
			Subkutangewebe	Herzblut	
1	0,2 $^1/_{10}$ Kultur	krank; getötet nach 24 Std.	+++ grüne Kol. +++ hämol. Kol.	+++ grüne Kol. (= 56 Pn.)	Die grünen Kolonien groß, schleimig, meist konfluiert, wie Pneumokokk.
2	0,2 $^1/_{100}$ "		0	++ grüne Kol.	
3	0,2 $^1/_{1000}$ "		0	+++ grüne Kol.	
4	0,2 $^1/_{10000}$ "		0	++ grüne Kol.	Neben den schleimigen grünen Kolonien auch trockene mit zentraler Delle

24 Stunden nach der Infektion waren die Mäuse bereits krank, ein bei frischen hämolytischen Streptokokken seltenes Vorkommnis (vgl. dazu Schnitzer, 4). Die Abimpfung auf Blutagar zeigte, daß nur bei der stärksten Infektionsdosis hämolytische Streptokokken im Subkutangewebe auftraten und zwar in Mischkultur mit großen schleimigen Kolonien, die den Blutagar grün verfärbten. Die gleichen Kolonien traten im Herzblut dieser und aller anderen Mäuse auf.

Die Untersuchung der grünen Kolonien (Stamm 56 Pn.) ergab, daß es sich um Pneumokokken handelte.

Sie wuchsen in Serumbouillon trübe mit ganz geringem Bodensatz. Morphologisch waren es lanzettliche, gelegentlich runde Diplokokken, die zuweilen auch in kurzen, 4—6gliedrigen Ketten lagen, von einem hellen Hof umgeben. Durch Natrium taurocholicum wurden sie in der Konzentration 0,625:100 völlig gelöst; im Entwicklungshemmungsversuch mit Optochin wirkte noch eine Verdünnung von 1:640000. Bei intraperitonealer Infektion von Mäusen töteten 0,3 ccm einer 1:100000 verdünnten 24stündigen Serumbouillonkultur binnen 2 Tagen. Im Ausstrich des Peritonealexsudates waren deutlich Kapseln. Die agglutinatorische Typenbestimmung ergab Zugehörigkeit zum Typus III.

Am 7. 7., d. h. 3 Tage nach der 1. Einstellung, wurde der Tierversuch wiederholt, sein Ergebnis ist in Tabelle II dargestellt.

Wie aus der Uebersicht hervorgeht, wurden wieder nur bei der stärksten Dosis reichlich hämolytische Streptokokken gefunden, die — in geringerer Zahl — auch im Herzblut anzutreffen waren. Bei

Tabelle II.

Maus Nr.	Infektion subkutan, Bauch	Tod	Auf Blutagar	
			Subkutangewebe	Herzblut
1	0,2 $^1/_{10}$ Kultur	Munter; getötet nach 24 Std.	+++ hämol. Kol.	++ hämol. Kol.
2	0,2 $^1/_{1000}$ „		10 „ „ 10 „ „	25 „ „
3	0,2 $^1/_{10000}$ „		+++ grüne Kol. (= 56 V.)	++ „ „

schwächerer Dosis überlebten nur wenige Keime im Subkutangewebe und im Blute. Keime vom Typus des Pneumokokkus traten nicht auf, dagegen wurden aus dem Subkutangewebe bei ganz schwacher Infektion reichlich Kolonien vom Typ des grünwachsenden Streptokokkus gezüchtet (Stamm 56 V). Der Vergleich der Herzblutbefunde in Tabelle I und II zeigt deutlich die starke Tendenz der Pneumokokken als Septikämieerreger zur Allgemeininfektion, die bei Streptokokken nur selten so stark ausgeprägt ist[1]).

Die weitere Untersuchung des Stammes ergab, daß er für Mäuse weitgehend avirulent war (0,3 $^1/_{10}$-Kultur tötete Mäuse nicht); die Gallenprobe mit Na. taurocholic. zeigte keine Löslichkeit, ebenso war die Optochinempfindlichkeit in vitro gering (1:5000).

Zeigte Tabelle I, daß in der Maus eine Abspaltung echter hochvirulenter Pneumokokken aus einem rein hämolytischen Streptokokkus stattgefunden hatte, so geht aus Tabelle II hervor, daß dieser Stamm wenige Tage später diese Fähigkeit nicht mehr besaß, sondern in die avirulenten grünwachsenden Streptokokken überzugehen neigte.

Dieses Verhalten ist nicht überraschend und spricht keineswegs gegen die Richtigkeit des ersten Befundes. Zahlreiche Erfahrungen haben gelehrt, daß die Modifikationsfähigkeit der Streptokokken und Pneumokokken vom Alter der Stämme abhängig ist. Frische Stämme neigen mehr zur Bildung virulenter Modifikationen, während bei gealterten Stämmen — und diese Alterung kann schon nach wenigen Nährbodenpassagen eintreten — die Entstehung avirulenter Varianten begünstigt wird.

Der Möglichkeit, daß durch irgendeine Fehlerquelle das Auftreten der Pneumokokken vorgetäuscht war, wurde nachgeforscht. Es spricht gegen eine solche Annahme der Umstand, daß die von der am 4. 7. zum Versuch benutzte Serumbouillonkultur des Strept. 56 angelegte Blutagarplatte wieder eine Reinkultur hämolytischer Streptokokken zeigte. Bei Weiterzüchtung und wiederholter fraktionierter Aussaat blieb der Stamm rein hämolytisch. Die Interferenz einer spontanen Mäuseinfektion mit Pneumokokken ist auszuschließen; 8 am gleichen Tage mit 2 anderen Streptokokkenstämmen infizierte Mäuse zeigten — auch bakteriologisch — ein durchaus normales Verhalten der Infektion.

Aus einer späteren Eiterentnahme desselben Kranken gewonnene hämolytische Streptokokken zeigten bei genauer Untersuchung keine Abspaltung von Pneumokokken mehr. Kulturell waren diese Keime nur insofern abnorm, als sie auf Blutagar große, schleimige, aber stark hämolytische Kolonien bildeten.

1) Bezüglich des anscheinend paradoxen Verhaltens der Herzblutinfektion bei Maus 3 (Tabelle II) vgl. Schnitzer (l. c.).

Wir tragen auf Grund der zahlreichen experimentellen und klinisch-bakteriologischen Erfahrungen Morgenroths und seiner Mitarbeiter kein Bedenken, den geschilderten Befund als eine Abspaltung von echten Pneumokokken aus einem hämolytischen Streptokokkus aufzufassen.

Als Zusammenfassung sei das charakteristische Verhalten des Stammes 56 und seiner Varianten in Tabelle III nochmals wiedergegeben, die keiner Erläuterung mehr bedarf.

Tabelle III.

Stamm	Morphologie	Wachstum		Virulenz bei intraperitonealer Infektion	Verhalten in Na. taurocholic	In vitro abtötende Konzentration von Optochin
		In Serumbouillon	Auf Blutagar			
56	lange Ketten	klar + flockiger Bodensatz	stark hämolytisch	0,3 $^1/_{10}$ Kultur † 1. Tag	—	1 : 5000
56 V	lange Ketten	leicht trübe + krümeliger Bodensatz	Vergrünung	0,3 $^1/_{10}$ Kultur tötet nicht	2,5 : 100 löst nicht	1 : 5000
56 Pn_1	Diplokokken; im Tierkörper Kapselbildg.	trübe + Spur Bodensatz	Vergrünung; schleimige Kolonien	0,3 $^1/_{100000}$ Kultur † 2. Tag	0,625 : 100 löst völlig	1 : 640 000

Das Vorkommen der Pneumokokken und der Streptokokken im hämolytischen und grünen Zustande gerade auf der Schleimhaut der gesunden und kranken Respirationswege, ebenso wie die Variabilität der aus diesen Gebieten gezüchteten Keime, die Uebergänge vom Pneumokokkus zum Streptokokkus wie vom Streptokokkus zum Pneumokokkus zuläßt, spricht für die Richtigkeit der Annahme, daß die Trias hämolytischer Streptokokkus, grüner Streptokokkus, Pneumokokkus nicht Ausdruck einer zufälligen Symbiose, sondern des engen genetischen Zusammenhanges dieser Keime ist.

Literatur.

1) Berger u. Engelmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 32. — 2) Kuczynski u. Wolff, Berl. klin. Wochenschr. 1921. Nr. 29 u. Wolff, Virchows Arch. Bd. 244. 1923. S. 97. — 3) Die Besprechung weiterer Literatur findet sich in den Arbeiten Morgenroths und seiner Mitarbeiter in der Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 43. 1925. H. 3. — 4) Schnitzer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 100. 1923. S. 59.

Nachdruck verboten.

Ueber den Nachweis virulenter Diphtheriebazillen durch die Intrakutangabe an Meerschweinchen mit der Ausgangsmischkultur[1]).

[Charkower Bakteriologisches Institut (Direktor: Prof. Zlatogorow).]

Von **M. Kalmykowa** und **M. Glusmann**,
Assistenten des Instituts.

Schon recht bald nach der Entdeckung des Diphtherieerregers hat sich Loeffler über die Notwendigkeit eines vorläufigen Meerschweinchenversuches geäußert (subkutane Injektion der Reinkultur), um das echte Diphtheriestäbchen von diphtherieähnlichen zu differenzieren.

Später, als die Methoden der bakteriologischen Untersuchung besser wurden, fing man an, diese Forderung zu ignorieren. Nicht wenig mag dazu beigetragen haben die noch ungeklärte Frage, ob die Virulenz der Diphtheriebazillen für den Menschen die gleiche ist wie für das Meerschweinchen.

Wir wollen an dieser Stelle auf die hierüber bestehende, sehr reiche Literatur nicht näher eingehen, sondern verweisen auf eine Arbeit von Force und Beatti, welche diese Frage eingehend behandelt. Wir müssen jedoch darauf hinweisen, daß die meisten bisher bekannt gewordenen Fakten für eine Identität der Virulenz sprechen, d. h. ein Diphtheriestamm, der für den Menschen virulent ist, ist auch für das Meerschweinchen virulent, und umgekehrt. Als hinreichenden Beweis hierfür können wir den Versuch der Amerikaner Guthrie, Marshall und Moss anführen, den sie im Jahre 1921 an 8 Volontairs gemacht haben. Sie infizierten die Rachenschleimhaut dieser Personen mit für Meerschweinchen virulenten Diphtheriebazillen und erzielten bei vier Personen eine typische Diphtherieerkrankung; die übrigen vier, die nicht reagiert hatten, waren nach der Schickprobe immun.

Wenn auch die biologische Methode der Kulturprüfung bei der Untersuchung von Diphtheriekranken und ihrer Umgebung nur eine geringe Bedeutung besitzen mag, so kommt ihr doch bei der Untersuchung von Bazillenträgern eine große Rolle zu.

Schon auf Grund der Tatsache, daß die Zahl der Bazillenträger (die stets ziemlich groß ist) mit der Zahl der Erkrankungen (die viel weniger bedeutend ist) nicht übereinstimmt, kann man a priori annehmen, daß die Träger von avirulenten Bazillen sehr häufig sind. Die in der Arbeit von Force und Beatti angeführten statistischen Angaben bestätigen im allgemeinen diese Voraussetzung.

Wir glauben deshalb, daß das Gesundheitsamt von New York mit vollstem Rechte handelte, als es die Träger von für Meerschweinchen avirulenten Diphtheriebazillen von der Quarantäne befreite.

Die praktische Anwendung der biologischen Prüfung von Diphtheriekulturen wurde zuerst durch die erheblichen Unkosten (die

1) Nach einem auf dem 9. Bakteriologenkongreß in Moskau (Mai 1925) erstatteten Bericht.

subkutane Injektion erfordert immer ein Meerschweinchen für jede Untersuchung) und dann durch die Forderung von Neißer und Gins (1913), zur intrakutanen Injektion nur Reinkulturen zu benutzen, durch die Komplizierung der Methoden verhindert.

Doch können diese Mängel durch eine von den Amerikanern vorgeschlagene Aenderung der Methode von Neißer und Gins beseitigt werden.

Diese Aenderung besteht darin, daß gegenwärtig für die intrakutane Injektion anstatt der Reinkultur die Ausgangsmischkultur angewandt wird, die unmittelbar von dem untersuchten Material erhalten wird.

Die Technik ist folgende: Je 0,1 ccm oder 0,2 ccm der Emulsion einer Ausgangsmischkultur (nach einem bestimmten Standard) werden in die rasierte Haut eines nicht immunisierten Meerschweinchens und eines immunisierten Meerschweinchens — als Kontrolle — injiziert. Um Immuntiere zu gewinnen, injizierten die Amerikaner dem betreffenden Meerschweinchen einige Stunden vor dem Versuche Antidiphtherieserum. Wenn die untersuchte Mischkultur virulente Diphtheriebazillen enthält, so entsteht eine für die Diphtherieaffektion typische Hautveränderung an der Injektionsstelle, die das Aussehen eines Infiltrates hat und später in Nekrose übergeht. Das Verhalten des Kontrollmeerschweinchens erlaubt uns, eine eiterige Entzündung von einer Diphtherieaffektion zu unterscheiden. In einer ganzen Reihe von Fällen gelingt es, schon nach 24 Stunden das Vorhandensein von virulenten Bazillen in der gegebenen Kultur festzustellen.

Havens u. Powell (Americ. Journ. of Hyg. 1922, No. 3), die die neue Methode beschrieben haben, haben 509 Kulturen untersucht, von denen 341 als positiv diagnostiziert wurden. Von diesen letzteren waren 305 Kulturen nach ihrer neuen Methode als virulente Bazillen anzusehen. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß dieselben Autoren in 4 von 17 untersuchten Kulturen auch das Vorhandensein von avirulenten Diphtheriebazillen nachweisen konnten.

Diese letztere Feststellung macht die neue Methode besonders wertvoll. Force und Beatti (Americ. Journ. of Hyg. 1922, Nr. 5) bestätigen die von Havens und Powell erhaltenen Resultate. Bei parallelen Untersuchungen mit 202 Kulturen (subkutan und intrakutan) wurde nur in 4 Fällen keine Uebereinstimmung beobachtet.

Ein besonderes Interesse bieten die Versuche von Bull und Mc Kee (Americ. Journ. of Hyg. 1923, Nr. 2), welche diese Methode zum Auffinden von Bazillenträgern angewandt haben. Unter 82 Kulturen, die bakteriologisch als Diphtheriekulturen diagnosziert wurden, enthielten nur 19 virulente Bazillen.

Somit beweist uns das Untersuchungsmaterial der amerikanischen Autoren die praktische Brauchbarkeit dieser neuen Methode, die zweifellos große Vorzüge gegenüber den bisher benutzten Methoden aufweist.

Da aber hier mit Mischkulturen gearbeitet wird, so erscheint ein gewisser Skeptizismus durchaus gerechtfertigt und eine Nachprüfung der Methode der amerikanischen Autoren vor ihrer Einführung in die Praxis geboten.

Wir haben eine solche Nachprüfung mit dem Materiale unseres Institutes durchgeführt, worüber wir nachstehend berichten wollen.

Unser Material stammt fast ausschließlich von diphtherieverdächtigen Kranken. Es wurde von uns folgende Untersuchungstechnik befolgt:

Eine Ausgangsmischkultur auf erstarrtem Pferdeserum wurde mit physiolog. Kochsalzlösung abgeschwemmt und so verdünnt, daß die erhaltene Emulsion einer Streptokokkus-Standardemulsion mit einem Gehalte von $^1/_2$—1 Milliarde Keimen in 1 ccm entsprach.

Bei geringem Gehalte an eiterbildenden Bazillen und hohem Gehalte an Diphtheriebazillen wurde die Emulsion von $^1/_2$ Milliarde Keimen als Standardlösung gewählt, und bei umgekehrten Verhältnissen die Standardlösung von 1 Milliarde.

In allen Fällen wurde einem Meerschweinchen von 400—500 g 0,2 ccm in die rasierte Haut gespritzt. Als Kontrolle dienten uns Meerschweinchen, welche durch Diphtherietoxin-Antitoxin immunisiert worden waren.

Dieses Verfahren ermöglichte es uns, den Versuch zu jeder Zeit auszuführen, da es nicht mehr nötig war, unsere Meerschweinchen durch Immunserum vorzubereiten. Außerdem können wir jetzt unsere Meerschweinchen eine ziemlich lange Zeit benutzen, da die Gefahr der Anaphylaxie bei wiederholter Injektion von Serum ausgeschlossen ist.

In den Fällen, in denen außer Diphtheriebazillen nur wenige andere Keime vorkamen, erhielten wir schon nach 24 Std. ganz bestimmte Resultate. Wenn die Kultur zahlreiche andere Keime enthielt, war eine sichere Diagnose erst nach 48, jedoch nicht später als nach 72 Std. möglich. Ein negatives Resultat ist mit Bestimmtheit nach 48 Std. abzulesen.

Im ganzen haben wir nach dieser neuen Methode 169 Kulturen aus dem Materiale unseres Institutes untersucht. Außerdem wurden 8 Kulturen (aus 120 Untersuchungen auf Bazillenträgertum), die wir aus zwei Schulen erhielten, geprüft[1]).

Nach der bakteriologischen Diagnose können wir diese Kulturen in folgende vier Gruppen teilen:

1) einwandfrei positiv 60
2) zweifelhaft positiv 10
3) zweifelhaft negativ 13
4) negativ 86

4 Kulturen der ersten Gruppe, nach der neuen Methode geprüft, erwiesen sich als negativ. In einem Falle erhielten wir eine Reinkultur, die bei subkutaner Injektion avirulent war. In einem zweiten Falle handelte es sich um einen Bazillenträger.

Alle Kulturen der 2. Gruppe, die wir als „zweifelhaft-positiv“ bezeichnet haben, erwiesen sich als virulent.

Von den Kulturen der 3. Gruppe „zweifelhaft negativ“ fanden wir in zwei Fällen virulente Bazillen; die daraus erhaltene Reinkultur tötete das Meerschweinchen nach subkutaner Injektion.

Die negativen Kulturen der 4. Gruppe blieben unverändert negativ, auch nach Prüfung der neuen Methode.

8 Kulturen, die von Bazillenträgern stammten, die bei der bakteriologischen Untersuchung unbestimmte Resultate ergaben, erwiesen sich bei der Prüfung mit der neuen Methode als Nicht-Diphtheriekulturen.

---

1) Wir sprechen auch an dieser Stelle unseren besten Dank dem Sanitätsarzt Suslowa für das gelieferte Material aus.

Im ganzen wurden 20 Reinkulturen angelegt, die sämtlich Meerschweinchen bei subkutaner Injektion töteten.

Das Erkennen des wirklichen Charakters der eintretenden Hautveränderungen (Infiltrat, das in Nekrose übergeht) bot keine Schwierigkeit. Im Falle von Eiterentzündungen half beim Erkennen der Affektion in den ersten 2 Tagen das Kontrollmeerschweinchen, bei dem der Charakter und der Umfang der Hautveränderungen sich von den Erscheinungen an der Haut der nichtimmunisierten Meerschweinchen stark unterscheidet (vorausgesetzt, daß in der injizierten Kultur Diphtheriebazillen vorhanden waren). Vom 3. Tage ab läßt die typische Nekrose keinen Zweifel mehr über die Ursache der Affektion.

Ein Meerschweinchen läßt sich für 4—6 Proben ausnützen. Das Kontrollmeerschweinchen kann sogar für eine viel größere Zahl von Untersuchungen dienen, da die Hautveränderungen, die durch Eitererreger der Mischkulturen hervorgerufen werden, nur selten sind und rasch vergehen, ohne eine Spur zu hinterlassen.

Wir haben niemals beobachtet, daß Kontrollmeerschweinchen, sogar bei Anwendung von Reinkulturen (die den Tod nichtimmuner Meerschweinchen bei einmaliger subkutaner Injektion zur Folge hatten), darauf typisch reagierten. Diese Tatsache bestätigt erneut, daß die Immunität, die nach Anwendung von Toxin-Antitoxingemischen erhalten wird, sich gegenüber jeder virulenten Kultur als wirksam erweist.

Wir konnten uns somit an unserem eigenen Materiale davon überzeugen, daß die von den Amerikanern empfohlene Aenderung der Methode Neißer und Gins unsere vollste Aufmerksamkeit verdient. Diese Methode ist in den Fällen unersetzlich, wo die Morphologie der in den Ausgangsmischkulturen vorkommenden Diphtheriebazillen eine Diagnose mit Sicherheit nicht gestattet.

Aus unseren Untersuchungsergebnissen glauben wir nachstehende Schlußfolgerungen ziehen zu dürfen:

1) Die intrakutane Probe an Meerschweinchen mit der Ausgangsmischkultur gestattet einen sicheren Rückschluß auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von für Meerschweinchen virulenten Diphtheriebazillen. — 2) Diese Methode gibt uns die Möglichkeit, echte Diphtheriebazillen von den diphtheroiden zu differenzieren. — 3) Sie ermöglicht uns ferner, bei Bazillenträgern virulente Diphtheriebazillen nachzuweisen. — 4) Die genannten Vorzüge und die technische Einfachheit der Ausführung empfehlen die Einführung dieser Methode in die Praxis.

Experimenteller Beitrag zur peroralen Immunisierung des Kaninchens gegen Ruhr.

[Aus dem Epidemiologischen Institut in Nisch, Jugoslavien.]

Von Direktor Dr. **G. P. Alivisatos** und Dr. **M. Jovanovic**,
Assistent am Institut.

Das Fehlen eines wirksamen Schutzstoffes gegen Ruhr hat sich während des Krieges stark bemerkbar gemacht. Nachdem die subkutane Einverleibung von nach dem Vorbild der Cholera- oder Typhus-

impfstoffe vorbereiteten Ruhrimpfstoffe sich als unmöglich erwiesen hatte, hat es an Versuchen nicht gefehlt, einen weniger toxischen und geringere Reaktionen hervorrufenden Impfstoff zu erzeugen. So sind mehrere Impfstoffe entstanden, von denen „Dysbakta“ sich als der beste erwiesen hatte. Doch stößt die Bereitung eines solchen Impfstoffes in großen Mengen auf große Schwierigkeiten, da die Herstellung kompliziert ist. Wir benötigen in unserem Lande jedoch eines Impfstoffes für prophylaktische Zwecke, der in großen Mengen leicht herstellbar und leicht anwendbar ist; denn, wie der eine von uns schon früher auseinandergesetzt hat (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. H. 1), ist bei uns, wo Typhus und Ruhr endemisch herrschen, und wo vorläufig keine anderen hygienischen Maßnahmen vorgenommen werden können, die Schutzimpfung der Volksmassen gegen diese Krankheiten nicht nur angebracht, sondern notwendig (sie hat sich bereits beim Publikum sehr gut eingebürgert). Somit ist die Frage der Schutzimpfung gegen Ruhr, welche nach dem Kriege in vielen Ortschaften endemisch beobachtet wurde, bei uns wieder akut geworden. Wie auch für die übrigen Schutzimpfungen, gelten auch hier dieselben Regeln, d. h. der Impfstoff soll leicht herstellbar, die Impfung leicht durchführbar und die daraus entstehenden Reaktionen gering sein, damit die Schutzimpung leicht von der Bevölkerung aufgenommen werden kann. Auf Grund dieser Erwägungen sind wir der Frage eines prophylaktischen Schutzes „per os“ näher getreten, da diese Art des Schutzes mit Leichtigkeit bei den Volksmassen durchgeführt werden könnte, wenn man an die Beliebtheit denkt, mit welcher die Bevölkerung „Medikamente per os“ einnimmt.

Die Immunisierung gegen das Toxin des Shiga-Bazillus mit „per os“ eingeführten Ruhrkulturen ist zuerst von Shiga im Jahre 1908 an Kaninchen versucht worden, welche mit abgetöteten Dysenteriebazillen gefüttert waren. Die behandelten Kaninchen überlebten einige Tage die Kontrolltiere, starben aber nach 3—7 Tagen an Lähmungen und anderen nervösen Erscheinungen, während die Kontrolltiere an dysenterischer Intoxikation der Darmschleimhaut zugrunde gingen; das Resultat dieser Experimente war also eine gewisse Widerstandserhöhung, aber keine wahre Immunität. Shiga hat jedoch die Immunisierung „per os“ in Irrenhäusern anscheinend mit Erfolg durchgeführt.

Dopter und Rapaci haben 1909 die Immunisierung gegen Ruhr „per os“ an Mäusen und Kaninchen versucht. Die Immunisierung der Mäuse gelang ihnen, wenn sie 3 Tage lang die Tiere jedesmal mit je 5 mg abgetöteten Ruhrbazillen fütterten, doch war die damit erreichte Immunität von kurzer Dauer und trat nicht ein, wenn man nur ein einziges Mal die Mäuse mit der ganzen Dosis behandelte. Die Immunität trat den 10.—12. Tag nach der ersten Darreichung ein und dauerte nicht über 30 Tage. Die Ergebnisse dieser Experimente waren nach der Meinung Dopters nicht überzeugend, da man, um einen Menschen gegen Ruhr immunisieren zu können, 45 g Bazillenleiber in 3 Tagen hätte verabreichen müssen.

Chvostek hat Kaninchen durch Verfütterung mit abgetöteten oder lebenden Ruhrbazillen zu immunisieren versucht und gefunden, daß Kaninchen nach Fütterung mit ziemlich hohen Kulturdosen (2mal im Abstande von 8 Tagen) gegen nachträgliche Infektion immunisiert werden können, obwohl man im Serum der so behandelten Tiere keine Spur von Agglutininen aufzufinden vermag.

Die Frage ist von neuem viel später während des Weltkrieges und nachdem von Besredka aufgenommen worden, der experimentell an Kaninchen folgende Tatsachen zu konstatieren vermochte:

1) Kaninchen, welche „per os" mit abgetöteten Shiga-Kulturen gefüttert werden, können, wenn die Dosen der Kulturen zu hoch gewählt waren, an dysenterischen Intoxikationen sterben; der Sitz der pathologischen Veränderungen ist immer der Darmtraktus.

2) Man findet bei Kaninchen, welche subkutan oder auch intravenös mit lebenden Shiga-Bazillen infiziert werden, das Agens ausschließlich im Intestinaltraktus (fast in Reinkultur).

3) Kaninchen werden nach Fütterung per os mit abgetöteten Dysenteriebazillen, wenn sie nicht infolge Intoxikation verenden, immun gegen nachträgliche intravenöse Infektion mit lebenden Shiga-Bazillen, ohne daß man im Serum solcher Tiere Agglutinine oder andere Immunkörper (substances préventives) nachweisen kann.

Obwohl nun der Mensch viel empfindlicher gegenüber dem Dysenterievirus und -toxin ist, als die Kaninchen, schien es uns notwendig, bevor die Immunisierung des Menschen „per os" versucht wurde, über folgende Punkte durch Tierexperimente Klarheit zu verschaffen:

1) Die kleinste Dosis Ruhrschutzstoffes zu bestimmen, welche, Kaninchen „per os" gegeben, die Tiere gegen eine starke intravenöse Infektion mit Shigabazillen zu schützen vermag; außerdem die toxische Dosis des „per os" verabreichten Dysenterieschutzstoffes (Shigabazillen) für Kaninchen festzustellen, um zu sehen, um wieviel diese Dosis höher ist als die vorige. (Bei den Besredkaschen Experimenten lag die eine Dosis sehr nahe der anderen.)

2) Ob die gegen lebendes Virus immunisierten Tiere auch gegen die entsprechenden Dosen Toxins immun sind.

3) Wie lange die „per os" erlangte Immunität gegen Infektion oder Intoxikation dauert.

4) Ob die Immunität „per os" schneller als die durch Impfungen einzutreten pflegt.

Es schien uns um so notwendiger, diese Fragen experimentell zu klären, als man mit ihrer Aufklärung einen Einblick in das Wesen der so erzeugten Immunität hätte gewinnen können, was für die nachfolgende Anwendung der Methode an Menschen von größter Bedeutung wäre.

Die Art der Bereitung des Schutzstoffes ist sehr einfach: große Agarflaschen (27×12×5 cm) werden mit 300 g 3proz. Agar (p_H 7,8) beschickt und hierauf mit verschiedenen Shiga-Stämmen, welche gute Giftbildner sein müssen, beimpft. Nach 24stünd. Bebrütung wird jede Flasche mit 50 ccm steriler Kochsalzlösung abgespült und das Spülwasser aus den einzelnen Flaschen in großen Kolben gesammelt. Die so erhaltenen Bazillenaufschwemmungen werden $1^1/_2$ Std. lang in einem großen Wasserbad bei 58° gehalten, hierauf wird eine Sterilitätsprobe vorgenommen. Wenn die Probe nach 48 Std. Bebrütung der Röhren nicht negativ ausfällt, wird die Emulsion noch einmal für 1 Std. auf 58° unter Schütteln erwärmt und wieder auf Sterilität geprüft. Fällt die Probe negativ aus, so wird die ganze Emulsion langsam unter Schütteln mit 0,25 Proz. Lysol versetzt. Die Wertbestimmung wird dann auf folgende einfache Weise nach Gewicht vorgenommen: Vier genau austarierte, möglichst gleichschwere Zentrifugengläser werden mit je 10 ccm der vorher gut durchgeschüttel-

ten Emulsion gefüllt und 30′ lang bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Nach scharfem Abpipettieren wird der Rückstand 2 Std. lang im Thermostat bei 46° getrocknet und genau abgewogen. Zeigen sich Unterschiede im Gewicht des Rückstandes der vier Zentrifugenröhren, was bei genauer Arbeit sehr selten vorkommt, so wird der Mittelwert genommen, hierauf wird die ursprüngliche Menge der Emulsion mit so viel Kochsalzlösung verdünnt, bis 10 ccm der Emulsion etwa 100 mg Bakteriensubstanz enthalten. Hierauf füllt man die Emulsion in Flaschen zu 10 oder 20 ccm zum Gebrauch. (Die Methode der Wertbestimmung des Schutzstoffes nach dem Gewicht ist viel genauer als jede andere bis jetzt vorgeschlagene, nur muß man selbstverständlich darauf Acht geben, daß man bei allen Etappen der Manipulationen, vom Durchschütteln der Emulsion angefangen bis zum Eintrocknen des Rückstandes, immer unter den gleichen Verhältnissen arbeitet. Wir haben uns oftmals überzeugen können, daß die Gewichte des Rückstandes in den 4 Röhren bis auf Milligramme stimmen.)

Die Technik der Immunisierung der Tiere mit dem so bereiteten Schutzstoffe ist ebenfalls sehr einfach. Man läßt die Tiere über Nacht hungern (Ställe ohne Nahrung, Heu und Stroh) und gibt ihnen „per os“ am anderen Tag in der Frühe die gewählte Dosis Schutzstoffes ganz nüchtern, indem man mit einem Spatel die Zunge jeden Tieres herabdrückt und mit einer Pipette die flüssige Aufschwemmung des Schutzstoffes in die Maulhöhle einträufelt. Die Einführung geschieht gewöhnlich ohne jeden Verlust, denn die Kaninchen schlucken, wenn man ihnen mit der Pipette leise die Zunge berührt, spontan die eingetröpfelte Flüssigkeit. Die so behandelten Tiere füttert man erst nach dem Verlauf von 2 Std. (Die Tiere wiesen während der Dauer der Immunisierung außer in den Fällen, wo schon anderes angegeben wird, nur geringe Gewichtsabnahme auf.)

I.

Bestimmung der kleinsten Dosis Schutzstoffes, welche notwendig ist, um eine feste Immunität zu erzielen.

Protokoll Nr. 1[1]).

a) Jedes Tier erhält per os im ganzen 10 mg in 5 Tagen (10. 8.—15. 8. mit 1 Tag Pause), b) die Prüfung wird mit einem Shiga-Stamm vorgenommen, der zur Bereitung des Schutzstoffes nicht verwendet wurde (Nr. 1061 2 Oesen-Dosis letalis für Kaninchen), c) Prüfung intravenös den 9. Tag nach Abschluß der Immunisierung, d) das Serum der Tiere ist auf Agglutinine gegen Shiga-Bazillen vor der Immunisierung und 9 Tage nach Abschluß derselben (vor der Prüfung) untersucht worden (1:50—1:200) und hat negative Resultate gegeben.

---

1) Aus Raumersparnis haben wir die Symptome, welche die Kaninchen nach erfolgter Prüfung gezeigt haben, nicht aufgeführt.

Datum	Kaninchen			Kontrolltier Nr. 324
	Nr. 312	Nr. 322	Nr. 323	
	Gewichte:			
10. 8.	1220 g	1230 g	1280 g	
15. 8.	Abschluß der Immunisierung			
24. 8.	Prüfung auf Agglutinine			
	θ	θ	θ	
	Intravenöse Prüfung mit Stamm 1061 (Dosis letalis = 2 Oesen in 24—48 Std.)			1260 g
	2 Oesen † 2. Tag Sektion: Hyperämie. Kleine Häm. Isol. des Stammes Shiga 1061	2 Oesen † 2. Tag Sektion: dasselbe wie vorher	3 Oesen † 22 Std Sektion: Nur starke Hyp.	2 Oes. † ca. 36 Std. Sektion: Nur starke Hyp.
	Aus dem Darm ++	+++	+++	++
	Aus der Gallenblase +	0	++	0
	Aus der Milz 0	0	0	0

Anmerkung: Bei jeder Sektion wurden nach eingehender Untersuchung aller Organe nur die pathologischen Veränderungen notiert, und zwar wie folgt: S. = Sektion, Hyp = Hyperämie des ganzen Intestinaltraktus; Häm. = Hämorrhagien der Darmschleimhaut, C. Ö. = Cöcalödem, N. = Nekrosen.

Resultat: Die „per os“ gegebene Dosis war nicht imstande, die Tiere gegen intravenöse Infektion zu schützen.

Protokoll Nr. 2.

a) Jedes Tier bekommt 20 mg Schutzstoff „per os“ auf 5 Tage verteilt. — b) die Tiere werden mit Shiga-Stamm Z 10 geprüft, der zur Bereitung des Schutzstoffes nicht verwendet wurde, und von dem $^{1}/_{2}$ Oese, iv. injiziert, Tiere von 1250 bis 1500 g Gewicht in 24—48 Std. tötet. — c) Prüfung intravenös 9 Tage nach Abschluß der Immunisierung. — d) wie bei Protokoll Nr. 1.

Datum	Kaninchen			Kontrolltier Nr. 333
	Nr. 330	Nr. 331	Nr. 332	
	Gewichte:			
25. 8.	1170 g	1140 g	1180 g	
29. 8.	Abschluß der Immunisierung			
7. 9.	Intravenöse Prüfung			1340 g
	$^{1}/_{2}$ Oese Z. 10, † etwas über 48 Std.	1 Oese Z. 10, † etwas über 48 Std.	2 Oesen Z. 10, † 19 Std.	$^{1}/_{2}$ Oese, † etwas über 24 Std.
	Sektion: Starke Hyp. Starke Hämorrh.	Sektion: dasselbe wie vorher	Sektion: Hämorrhagisches Exsudat der Bauch- u. Pleurahöhle Starke Hyp. und Häm.	Sektion: Starke Hyp., Hämorrh.
	Isol. des Z. 10 aus Darm +	Isol. des Z. 10 aus Darm ++	Isol. des Z. 10 aus Darm +++	Isol. aus Darm ++
	Isol. aus Gallenblase 0	Isol. aus Gallenblase 0	Isol. aus Gallenblase +	Isol. aus Gallenblase 0
	Isol. aus Milz 0	Isol. aus Milz 0	Isol. aus Milz 0	Isol. aus Milz 0

Resultat: Gewisse Widerstandserhöhung bei den Tieren, welche die einfache oder zweifache Dosis letalis bekamen; kein Schutz bei dem Tier, das mit der 4fachen Letaldosis infiziert war.

Protokoll Nr. 3.

a) Jedes Tier bekommt 40 mg des Schutzstoffes „per os“, auf 5 Tage verteilt (8.—13. 9., dazwischen 1 Tag Pause). — b), c), d) Wie bei Protokoll Nr. 2.

Datum	Kaninchen					Kontrolltier
	Nr. 340	Nr. 341	Nr. 342	Nr. 344	Nr. 345	Nr. 348
	Gewicht					
8. 9.	1140 g	1160 g	1220 g	1225 g	1250 g	
13. 9.	Abschluß der Immunisierung					
22. 9.	Intravenöse Prüfung mit Z 10					1250 g
	1/2 Oese † 4. Tag	1/2 Oese 26. IX. Gew. 1055 g	1 Oese † 48 Std.	1 Oese † 48 Std.	2 Oesen † weniger als 24 Std.	1/2 Oese † ca. 36 Std.
	Sekt.: starke Hyp. Ausgedehnte Hämorrh. C. Oe. und N.	erholt sich n. Erkrankung u. überlebt definitiv	Sekt.: starke Hyp. Häm. beginnendes C. Oe.	Sekt.: fast dasselbe wie d. vorherige	Sekt.: sehr starke Hyp. und Häm.	Sekt.: wie das vorherige. Nur d. Häm. sind spärl.
	Isol. d. Z 10 aus Darm +		Isol. d. Z 10 aus Darm +	Isol. d. Z 10 aus Darm +	Isol. d. Z 10 aus Darm +++	Isol. d. Z 10 aus Darm +
	aus Gallenblase 0		aus Gallenblase 0	aus Gallenblase 0	aus Gallenblase +	

Resultat: Die „per os“ gegebene Schutzdosis kann unter Umständen die Tiere gegen die 1fache Dosis letalis schützen, sonst ist eine gewisse Widerstandserhöhung gegen 1fache und 2fache dos. let. vorhanden. Gegen die 4fache dos. let. ohne jeden Erfolg.

Protokoll Nr. 4.

a) Jedes Tier bekommt „per os“ 80 mg auf 5 Tage verteilt. — b), c), d) Wie bei Protokoll Nr. 2.

Datum	Kaninchen					Kontrolltier
	Nr. 350	Nr. 351	Nr. 352	Nr. 353	Nr. 354	Nr. 358
	Gewicht					
24. 9.	1190 g	1210 g	1250 g	1250 g	1255 g	1265 g
29. 9.	Abschluß der Immunisierung					
2. 10.			Lähmungen d. hint. Extremitäten, sehr stark abgemagert			
4. 10.			† Sekt.: Hyp. spärliche Häm.			
7. 10.	Intravenöse Prüfung mit Z 10					
	1/2 Oese	1 Oese		2 Oesen	2 Oesen	1/2 Oese † ca 36 Std. Sekt.: Hyp. Häm. Isol. d. Z 10 aus Darm +
	überleben			überleben		

Resultat: Die Dosis von 80 mg Ruhrschutzstoff, den Tieren „per os“ gegeben, kann sie mit Sicherheit gegen nachträgliche starke Dysenterieinfektion schützen und zwar gegen die 1fache, 2fache und 4fache Dosis letalis. Nun scheint diese Schutzdosis nicht ganz harmlos zu sein, da sie den Tod eines Tieres herbeigeführt hat; deswegen wird in der nächsten Serie versucht, mit kleineren Dosen (60 und 70 mg) dasselbe Resultat zu erreichen.

Protokoll Nr. 5 (verkürzt).

a) „per os" 70 mg, b), c), d) wie bei Protokoll Nr. 2.

Tiere	Nr. 360	Nr. 361	Nr. 362	Kontrolltier Nr. 368
Gewicht	1230 g 1/2 Oese	1240 g 1 Oese überleben alle	1260 g 2 Oesen	1265 g 1/2 Oese † 30 Std. Sekt.: wie gewöhnlich

Protokoll Nr. 6 (verkürzt).

a) „per os" 60 mg, b), c), d) wie bei Protokoll Nr. 2.

Tiere	Nr. 372	Nr. 373	Nr. 374	Kontrolltier Nr. 375
Gewicht	1190 g 1/2 Oese überleben	1195 g 1 Oese	1220 g 2 Oesen 4 Tage krank (Profuse Diarrhöen vom 2. Tag an), † 4. Tag Sekt.: starke Hyp. Häm. und N. mäßig. C. Oe. aus d. Darm Isol. Z 10 +++	1240 g 1/2 Oese † ca. 36 Std. Sekt.: wie gewöhnlich

Resultat: Man kann aus den bis jetzt angegebenen Protokollen folgende Schlüsse ziehen:

1) Die Dosis von 80 mg, „per os" gegeben, immunisiert sicher auch gegen eine 4fache Letaldosis, sie kann aber auch unter Umständen schädlich sein. — 2) Die Dosis von 70 mg, „per os" eingeführt, immunisiert so gut wie die vorige, ohne schädlich zu sein. — 3) Die Dosis von 60 mg kann nur bis zur 2fachen Dosis letalis immunisieren und die Dosis von 40 mg unter Umständen nur gegen die 1fache.

Nunmehr haben wir die ganze Serie des Protokoll 7 wiederholt, da wir feststellen wollten, ob der Parallelismus nur scheinbar oder konstant ist.

Protokoll Nr. 7 (verkürzt).

a) Jedes Tier bekommt die unten angegebene Dosis, b), c) wie im Protokoll Nr. 2.

Datum	Tiere Nr.									Kontrolltier
	380	381	382	384	385	386	387	388	392	393
	Gewicht									
	1250 g	1255 g	1275 g	1275 g	1280 g	1295 g	1305 g	1310 g	1310 g	1265 g
	Gegebene Schutzdosis									
2.–6. 7.	50 mg	50 mg	50 mg	60 mg	60 mg	60 mg	70 mg	70 mg	70 mg	—
15. 7.	Prüfung intravenös mit Z 10									
	1/2 Öse überleben definitiv	1/2 Öse	1 Öse † 3. Sekt.: Hyp. Häm. ausgeprägtes C. Oe. aus d. Darm Isol. Z10 ++	1/2 Öse überlebt	1 Öse † 3. Sekt.: Hyp. Häm. beginnendes C. Oe. aus d. Darm Isol. Z10 ++	1 Öse überleben definitiv	1 Öse	2 Ösen	2 Ösen	1/2 Öse † ca. 48 Std. Sekt.: wie gewöhnlich aus d. Darm Z 10 isoliert

Resultat: 70 mg Schutzstoffes, „per os" gegeben, schützen sicher gegen die 4fache Dosis letalis, dagegen verleihen 60 mg keinen sicheren Schutz gegen die doppelte Letaldosis, und 50 mg vermögen nur gegen die 1fache Dosis letalis zu schützen. Obwohl die Unterschiede zwischen den einzelnen Schutzdosen nur gering sind, steigt der damit verliehene Schutz dagegen ca. um das 4fache.

II.

Feststellung der giftigen Dosis des Schutzstoffes bei der Einnahme desselben per os.

Protokoll Nr. 8.

Datum	Tiere Nr.							
	165	166	167	170	171	172	174	176
	Gewicht							
7. 7.	1160 g	1215 g	1235 g	1240 g	1250 g	1270 g	1280 g	1285 g
	Einnahme der untenstehenden Menge Schutzstoff in 5 Tagen							
12. 7.	80 mg 1180 g bleibt gesund	80 mg 1175 g d. 2. Tag n. Abschluß d. Immunisier. Lähmung d. recht. Hinterbeins d. 22. VII. d. Tier ist ganz hergestellt	80 mg 1210 g bleibt gesund	80 mg 1215 g bleibt gesund	90 mg 1190 g Nach vorübergehend. Erkrank. [1]), welche 4 Tg. dauert, wieder hergestellt. (Gewicht am 4. Tag 1120 g	90 mg 1225 g bleibt gesund	90 mg 1195 g n. 3täg. Erkrankung (Lähmung d. hinteren Extremität. Diarrhöen) † Sekt.: Hyp. kleine Häm.	100 mg 1110 g n. 3täg. Erkrankung † 5. Tag wie zuvor

[1]) Diarrhöen, Fressunlust, Abmagerung.

Resultat: Der vorstehende Versuch beweist vor allem, daß die Schädlichkeit der Dosen von 80—90 mg Schutzstoff von der individuellen Empfänglichkeit der Tiere abhängt.

1) Die Dosis von 80 mg, per os gegeben, kann, obwohl auf 5 Tage verteilt, sowohl zum Tode führen (Tier 352) oder aber nur eine vorübergehende Lähmung hervorrufen. — 2) Die Dosis von 90 mg ist nicht immer schädlich; es gibt Tiere, welche ihr unterliegen, solche, die nach einer vorübergehenden Erkrankung sich wieder erholen, und solche, die gar keine sichtbaren Krankheitssymptome aufweisen. — 3) Die Dosis von 100 mg dagegen scheint, wenn man die starke Abmagerung und diarrhöischen Entleerungen, welche während der Einnahme des Schutzstoffes beobachtet wurden, berücksichtigt, immer zum Tode zu führen. — 4) Die Schädigungen scheinen bei dieser Art des Schutzes „per os" im ganzen im Laufe der ersten 4 Tage nach Abschluß der Behandlung vorzukommen. — 5) Die sichere Schutzdosis des „per os" gegebenen Schutzstoffes, gegen massive (4fache Letaldosis) Infektion, liegt für das Kaninchen in der Nähe einer Dosis, welche unter Umständen schädlich sein kann.

III.

Immunisierung „per os", Prüfung durch Shiga-Toxin.

a) Jedes Tier bekommt „per os" in 5 Tagen die unten angegebene Dosis Schutzstoff. — b) Die Prüfung wird vorgenommen durch ein Shiga-Toxin (Bouillon-

kultur), dessen Dosis letalis für ein Kaninchen von 1250 g Gewicht 0,05 ist († 3 bis 4 Tage bei intravenöser Injektion). — c) Prüfung intravenös den 9. Tag nach Abschluß der Immunisierung. (Protokoll Nr. 9 siehe Tab. S. 220 u. 221.)

Besprechung: „Per os" immunisierte Kaninchen zeigen vorerst eine Festigkeit auch gegen nachträgliche intravenöse Toxinprüfung, und zwar verlaufen die Resultate der Toxinprüfung denen durch Virusprüfung fast parallel, so schützt z. B. die Dosis von 50—60 mg gegen die einfache Dosis letalis des Toxins, jene von 70 mg gegen die 2fache, 3fache und sogar 5fache Dosis letalis des Toxins. Nun hat aber die spätere Beobachtung der Tiere gezeigt, daß die Verhältnisse ganz anders liegen, denn alle Tiere, außer einem, sind im Zeitraum von 24—38 Tagen nach der Toxinprüfung gestorben. Diese Tatsache ist von allergrößter Bedeutung, denn sie beweist:

1) daß die rezeptiven Zellen der Darmschleimhaut gleich nach der Immunisierung „per os" eine temporäre Unempfindlichkeit gegen das Gift, bei vorhandener Toxinbindung besitzen. Nach verloren gegangener Immunität der Zelle übt das verankerte Toxin seine deletäre Wirkung auf die Zelle aus und bewirkt den Tod (Tier Nr. 244 und 246, siehe auch später). Es scheint aber, daß die giftige Wirkung des Toxins sich nicht nur auf die Darmschleimhaut beschränkt, sondern sich auch auf andere Organe erstreckt, da es auch Tiere gab (Nr. 236 und 243), welche sehr geringe Veränderungen im Intestinaltraktus bei der Sektion aufwiesen, dagegen sehr starke Abmagerung zeigten. Man gebraucht gewöhnlich für diese Todesart das Wort „Marasmustod"; mit diesem Wort ist man aber dem Mechanismus der Toxinwirkung nicht näher gekommen, worüber eine besondere, eingehende Studie gemacht werden soll. Uebrigens kann man auch aus dem Protokoll Nr. 9 ersehen, daß die Tiere, obwohl sie scheinbar gesund aussehen, sehr kümmerlich wuchsen, und daß sie gerade vor dem Tode sehr starke Abmagerung zeigten, ein Beweis, daß das gebundene Toxin, während des Abklingens der Immunität, seine deletäre Wirkung entfaltet. 2) daß die Zeit des Ueberlebens der Tiere nach Abschluß der Immunisierung „per os" einen Anhaltspunkt gibt über die Dauer der per os der Zelle verliehenen Immunität, da anzunehmen ist, daß die Zelle erst nach verloren gegangener Immunität angegriffen werden kann (siehe auch Protokoll Nr. 11, welches dasselbe beweist); 3) daß die temporäre Immunität der Zelle um so länger dauert, je größere Dosen Schutzstoff gegeben wurden (50 mg 24, 70 mg 33, 36, 38 Tage), und daß bei gleicher Schutzdosis die Immunität auch fast gleichzeitig verschwindet; 4) daß es vielleicht möglich wäre, doch die Tiere per os gegen das Toxin ohne nachträgliche Schädigungen zu immunisieren, beweist das Ueberleben des Tieres Nr. 238, welches ein größeres Quantum Schutzstoff bekam, dagegen mit nur einer einzigen Dosis letalis des Giftes geprüft wurde.

IV.

Prüfung auf die Dauer der „per os" erlangten Immunität.

Wir haben dazu die überlebenden Tiere des Protokolls Nr. 8 und auch andere Tiere (Nr. 141, 142, 143, 144, 148, 149, 152, 153) gewählt die zu gleicher Zeit mit je 70 mg immunisiert waren.

Protokoll Nr. 10.

Prüfung 30 Tage nach Abschluß der Immunisierung mit Shiga Z. 10 (Dosis letalis 1/6 Oese, † 24—48 Std.).

Protokol

Datum	Tiere: Nr. 236	Nr. 237	Nr. 238	Nr. 239	Nr. 242
	Gewicht				
20. 10.	1240 g 50 mg	1240 g 50 mg	1255 g 60 mg	1270 g 60 mg	1280 g 60 mg
24. 10.	Abschluß der Immunisierung				
2. 11.	Prüfung intravenös mit Shiga-Toxin				
	0,05 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm
3. 11.	gesund	Freßunlust, krank	gesund	Freßunlut	blutig tingierte diarrh. Entleer.
4. 11.	„	auf die Seite gefallen	„	„	† 2. Tag. Sektion: Exsudat in der Peritonealhöhl. Hyp. Häm. N.
5. 11.	„	† 3. Tag. Sektion: Hyp. Häm. N. C. Oe.	„	stark diarrh. Entleer.	
6. 11.	„			† 4. Tag. Sektion: wie bei Tier 237	
7. 11.	„	†	„	†	†
	Gewicht				
20. 11.	1150 g † 26. 11. 24 Tage nach der Prüfung. Gewicht 1010 g. Sekt.: Nur ger. Hyp. d. Intestinaltrakt. Sonst kein anderer Befund		1335 g 10. 12. gesund. Gewicht 1480 g überlebt definitiv		

Datum	Tier	Nr. 141	Nr. 142	Nr. 165	Kontrolltier Nr. 109
7.—12. 7.		Immunisierung per os mit 70 mg	70 mg	80 mg	
11. 8.		Prüfung mit Z 10 $^1/_2$ Oese	1 Oese	2 Oesen	$^1/_2$ Oese
	Gewicht	1515 g	1510 g	1475 g	1310 g † 36 Std. Sekt.: typisch
		alle Tiere überleben			

Protokoll Nr. 11.

Prüfung 30 Tage nach Abschluß der Immunisierung mit Shiga-Toxin (Dosis letalis 0,05 ccm, † in 3—4 Tagen).

Datum	Tier	Nr. 143	Nr. 144	Nr. 166	Nr. 171	Kontrolltier Nr. 113
7.—12. 7.		Immunisierung per os mit 70 mg	70 mg	80 mg	90 mg	
11. 8.	Gew.	1660 g	1695 g	1605 g	1590 g	1335 g
		Prüfung durch Toxin 0,05 ccm † $6^1/_2$ Tage Sekt.: Hyp. Häm. mäß. C. Oe.	0,1 ccm † 4 Tage Sekt.: Hyp. Häm. starkes C. Oe.	0,05 ccm † $5^1/_2$ Tage Sekt.: Hyp. Häm. C. Oe.	0,1 ccm † 5 Tage Sekt.: wie d. vorige	0,05 ccm † $3^1/_2$ Tage Sekt.: typisch

Nr. 9.

Tiere			Prüfung auf Immunität geg. das Virus. Kontrolltier Nr. 248	Kontrolltier Nr. 249
Nr. 243	Nr. 244	Nr. 246		
Gewicht				
1285 g 70 mg	1290 g 70 mg	1305 g 70 mg	1340 g 70 mg	
			Prüfung mit Z. 10	Gewicht 1350 g
0,1 ccm	0,2 ccm	0,25 ccm	2 Oesen	0,05 ccm
gesund	Freßunlust	Freßunlust	gesund	gesund
"	"	"	überlebt definitiv	Freßunlust
"	"	"		† 3½ Tage Sektion: typisch
	hergestellt	hergestellt		
gesund	gesund	gesund	gesund	
	Gewicht			
1340 g 10. 12. † 38 Tage nach der Prüfung. Gewicht 1033 g. Sektion: Geringe Hyp. Gedärme fast leer. Vereinzelte Häm.	1330 g 5. 12. † 33 Tage nach Prüfung. Gewicht 1035 g. Sektion: Hyp. Häm. C. Oe.	1345 g 8. 12. † 36 Tage nach Prüfung. Gewicht 1010 g. Sektion: wie die vorherige. Nur ist C. Oe. mehr ausgesprochen		

Resultat: Die per os bei Kaninchen erzeugte Immunität dauert noch den 30. Tag nach Abschluß der Immunisierung an, so daß die Tiere eine schwere Prüfung (bis zur 4fachen Dosis letalis) überstehen können. Die zur gleichen Zeit aber und nach gleicher Art immunisierten Tiere besitzen keine genügende Immunität mehr gegen das fertige Toxin, so daß die Tiere auch einer einfachen Letaldosis erliegen.

Protokoll Nr. 12.

Prüfung der 36. Tage nach Abschluß der Immunisierung mit Shiga Z 10 (½ Oese intravenös † 24—48 Std.).

Datum	Tiere			Kontrolltier 116
	Nr. 148	Nr. 149	Nr. 170	
7.—12. 7.	Immunisierung per os mit 70 mg	70 mg	80 mg	
	Gewicht			
17. 8.	1715 g Prüfung mit Z. 10	1820 g	1590 g	1560 g
	½ Oese gesund	1 Oese gesund	2 Oesen den 3. Tag (20. 7.) Lähmung der hinteren Extremitäten, den 22. 8. stirbt † 5. Sektion: Hyp. Häm. Aus dem Darminhalt ist die Isol. des Z. 10 nicht gelungen	½ Oese † ca. 48 Std. typisch

Protokoll Nr. 13.
Prüfung den 45. Tag nach Abschluß der Immunisierung mit Shiga Z. 10.

Datum	Tiere			Kontrolltier 125
	Nr. 152	Nr. 153	Nr. 172	
7.—12. 7.	Immunisierung per os mit 70 mg	70 mg	90 mg	
24. 8. Gew.	1785 g	1775 g	1575 g	1485 g
	1/2 Oese	1 Oese	2 Oesen	1/2 Oese
	† 3. Tag. Sektion: typisch	† 3. Tag. Sektion: typisch	† 2. Tag. Sektion: typisch	† ca. 48 Std. Sekt.: typisch

Resultat: Die per os immunisierten Tiere sind noch den 36. Tag nach Abschluß des Schutzstoffes verhältnismäßig fest gegen nicht allzu schwere Infektion (bis 2fache Dosis letalis). Gegen stärkere Infektion (4fache Dosis letalis) sind sie nicht mehr immun, desgleichen haben die „per os" immunisierten Tiere den 45. Tag nach Abschluß der Immunisierung die Immunität vollständig verloren und erliegen, wie die Kontrolltiere, auch einer einfachen Dosis letalis.

V.

Die Frage, ob diese „per os" erzeugte lokale Immunität früher als die allgemeine (durch subkutane Injektionen) erzeugte eintritt, ist von großer Bedeutung, denn wäre das richtig, so hätte man auch bei Menschen, bei Durchführung der Immunisierung per os, auf einen schneller eintretenden Schutz zu rechnen[1]).

Protokoll Nr. 14.
a) Alle Tiere bekommen „per os" je 70 mg in 5 Tagen verteilt. — b) Prüfung 2 Tage nach Abschluß des Immunisierungsaktes durch Shiga Z. 10 (d. l. 1/2 Oese. † 24—48 Std.).

Datum	Tiere			Kontrolltier Nr. 105
	Nr. 180	Nr. 183	Nr. 184	
3.—7. 8. Gew.	1330 g	1380 g	1390 g	1320 g
	Immunisierung wie oben mit je 70 mg			
9. 8.	Prüfung:			
	1/2 Oese	1 Oese	2 Oesen	1/2 Oese
	gesund	† 1 1/2 Tag Typ.	† ca. 24 Std. Typ.	† ca. 36 Std. Typ.

Anmerkung: Die verwendeten Tiere Nr. 183 und 184 haben ausgesprochene Hämorrhagien gehabt.

Protokoll Nr. 15.
a) Wie bei Protokoll Nr. 14. — b) Prüfung den 4. Tag nach Abschluß des Immunisierungsaktes durch Shiga Z. 10 (d. l. 1/2 Oese, † 24—48 Std.).

Datum	Tiere			Kontrolltier Nr. 106
	Nr. 185	Nr. 186	Nr. 187	
3.—7. 8. Gew.	1380 g	1425 g	1440 g	1385 g
	Immunisierung mit je 70 mg			
11. 8.	Prüfung mit Shiga Z. 10			
	1/2 Oese	1 Oese	2 Oesen	1/2 Oese
	alle überleben nach leichtem krank werden			† ca. 40 Std. typ.

1) Durch Beobachtungen an einigen tausenden bis jetzt per os gegen Ruhr immunisierten Personen haben wir festgestellt, daß längstens 3 Tage nach Abschluß

Resultat: Die Immunität, welche bei den „per os" mit derselben Dosis Schutzstoff immunisierten Kaninchen gleich (2. Tag) nach Abschluß des Immunisierungsaktes eintritt, ist eine relative; sie kann das Tier nur gegen die einfache Dosis letalis, nicht aber gegen die 2- und 4fache schützen. Es scheint sogar, als ob die giftige Wirkung der Prüfungsdosis sich zu dem noch nicht abgeklungenen deletären Effekt des per os gegebenen Schutzstoffes addiert hätte (Tiere Nr. 183 und 184). Dagegen sind den 4. Tag nach Immunisierungsabschluß „per os" die Tiere so stark immunisiert, daß die Immunisierung durch einfache, 2fache oder 4fache Letaldosis nicht gebrochen werden kann.

VI.

Zuletzt haben wir noch folgende Versuche ausgeführt. Je 3 Tiere sind mit je 70 mg von Schutzstoffen, welche von Paradysenterie-Bazillen, Typus Flexner, Strong, Y, hergestellt waren, „per os" immunisiert. Den 9. Tag nach Abschluß der Immunisierung sind je 3 Tiere (je 1 von jeder Serie Flexner, Strong, Y) mit einer 1fachen, 2fachen und 4fachen Dosis letalis des Shiga Z. 10 intravenös geprüft. Alle Tiere sind zugleich mit dem Kontrolltier gestorben. Endlich sind je 2 Tiere nach derselben Art per os mit 70 mg Shiga-Schutzstoff immunisiert und mit einer 1fachen oder 2fachen Letaldosis des Typus Y und Typus Strong den 9. Tag nach Immunisierungsabschluß intravenös geprüft (vom Flexner-Typus hatten wir damals keinen virulenten Stamm). Alle Tiere sind eingegangen, zwei sogar etwas früher als die Kontrolltiere. Aus allen Tieren ist Reinzüchtung des betreffenden Agens wieder gelungen.

(Anmerkung: Die Immunisierung „per os" gegen den homologen Stamm gelingt bei Strong- und Y-Typus ohne weiteres. Mit Flexner-Typus ist sie nicht versucht worden.)

Schlußfolgerung.

Keine Kreuzimmunität zwischen dem dysenterischen Shiga und paradysenterischen Flexner-, Strong- und Y-Stämmen.

Zusammenfassung.

Wenn wir die aus diesen Versuchen sich ergebenden Schlußfolgerungen für die perorale Immunisierung von Kaninchen gegen Ruhr und die daraus sich ergebenden Möglichkeiten einer Immunisierung des Menschen per os gegen Ruhr zusammenfassen, so können wir folgende Sätze aufstellen:

1) Die Immunisierung des Kaninchens per os gegen Shiga-Bazillen ist wohl möglich, nur ist es notwendig, um eine feste Immunität, die einer starken Infektion standhält, zu erzielen, die Schutzdosis hoch zu wählen; diese liegt indes nahe der Dosis, welche, allein den Kaninchen gegeben, auf sie schädlich wirken kann. 2) Da die Wirkung der Shiga-Bazillen bekanntlich auf dem von ihnen sezernierten Toxin beruht, aber auch auf der Toxizität der Bakterienleiber, die eine aus-

---

der Immunisierung keine neuen Erkrankungen mehr unter den Immunisierten eintreten.

gesprochene Affinität zur Darmschleimhaut besitzen, so ist es verständlich, daß abgetötete Bakterienleiber, „per os" unter den oben beschriebenen Umständen gegeben, immunisieren, aber auch in höheren Dosen durch Intoxikation töten können. 3) Diese „per os" erzielte Immunität ist keine antitoxische Immunität, vielmehr werden die empfindlichen (rezeptiven) Zellen des Darmtraktus durch die entsprechenden Dosen des Schutzstoffes gegen das Gift zeitweise unempfindlich, so daß sie einer massiven Infektion widerstehen können. Werden dagegen die so „per os" immunisierten Tiere mit entsprechenden Dosen Toxin geprüft, welches einen ausgesprochenen Darmtropismus besitzt, so bleiben dieselben vorerst gesund, d. h. der Effekt des Toxins bleibt aus, obwohl dieses von den zur Zeit unempfindlichen Zellen des Darmtraktes gebunden wird. Wenn nun aber allmählich die betreffenden Zellen ihre Immunität verlieren, entfaltet das gebundene Toxin entweder langsam oder auf einmal seine giftige Wirkung und führt zum Tode.

Nun entsteht die Frage, wie ein solcher Unterschied in der Wirkungsart des fertigen Toxins und des lebenden Virus ausgelegt werden darf. Dafür kann man folgende Erklärung geben: Die in die Blutbahn eingeführte Virusmenge gelangt sogleich zur Darmschleimhaut, deren Zellen aber unempfindlich sind. Die von den Bakterien sezernierten sehr kleinen Toxinmengen werden wohl gebunden, sind aber nicht imstande, giftig zu wirken. Inzwischen werden die Bakterien mechanisch, vielleicht größtenteils schon am gleichen Tag, aus dem Darm entfernt, so daß eine reichlichere Toxinproduktion und somit eine spätere Vergiftung nicht möglich ist. Wenn dagegen fertiges Toxin in die Blutbahn eingeführt wird, wird es in der ganzen Menge gebunden, und wenn die Zeit der Immunität der Zelle vorbei ist, wirkt es deletär und führt zum Tode. 4) Die „per os" erzeugte Immunität ist von kurzer Dauer. In den Versuchen dauert sie nicht über 35—40 Tage für das lebende Virus und das Toxin. Es kommt sogar vor, daß Tiere, welche nicht fest genug immunisiert waren, etwas früher erliegen. 5) Es scheint, daß das Dysenterie-Toxin außer dem Darmtraktus des Kaninchens auch zu anderen lebenswichtigen Organen desselben Tieres gewisse Affinität besitzt, Organe, welche wir gegebenenfalls nur durch die Blutbahn erreichen und immunisieren können.

Wenn man nun aus diesen Versuchen allgemeine Schlüsse ziehen darf, so kann man sagen, daß, obwohl der Satz „man schützt am besten gegen eine Krankheit, wenn man die rezeptiven Zellen immunisiert" zu Recht besteht, damit nicht der Weg bestimmt werden kann, wie man am besten und schnellsten zu einer festen Immunisierung gelangen kann. Das kann in manchen Fällen, wo es möglich ist, durch eine „lokale" Applikation des Schutzstoffes, in anderen Fällen hinwiederum auch oder nur durch eine subkutane Einführung des-

selben (allgemeine Immunisierung) erzielt werden, da es im Organismus oftmals mehrere mehr oder weniger empfindliche Zellarten für jedes Virus oder Gift gibt, welche nicht ausschließlich durch „lokale“ Einführung des Schutzstoffes erreicht und immunisiert werden können. Deswegen ist es nicht mehr angebracht, nur einem der Immunisierungsverfahren Vertrauen zu schenken. Alle beide sind von großer Bedeutung, und es wird eine spätere Aufgabe des Immunologen sein, im Anschluß an die Pathogenese jeder Krankheit, den sichersten und schnellsten Weg (ob das eine oder das andere oder beide Verfahren) zu finden, der zur Erzeugung einer festen Immunität führt.

Da nun der Mensch empfindlicher als das Kaninchen für das Dysenteriegift ist, so wird es auch möglich sein, bei ihm mit geringeren Mengen Schutzstoff eine lokale Immunisierung durchzuführen als beim Kaninchen. Im übrigen wird auch beim Menschen eine relativere Immunität verlangt, da er keiner solchen massiven Infektion, wie die Kaninchen im Versuche, ausgesetzt wird, so daß die Befürchtung nicht gerechtfertigt erscheint, die für ihn nötige Schutzdosis könne in der Nähe einer schädigenden Dosis liegen. Da ferner der Mensch mit fertigem Toxin auf natürlichem Wege nicht in Berührung kommen kann, wird seine Immunisierung „per os“, wenigstens für die kurze Dauer einer Ruhrsaison, wohl möglich sein[1]). Es scheint sogar aus den obigen Versuchen bewiesen, daß diese lokale Immunität sehr schnell eintritt, was für den Schutz des Menschen in endemischem Milieu von allergrößter Bedeutung ist.

Literaturübersicht.

Besredka, Ann. Inst. Pasteur. 1919. p. 301. — Calmette, Ibid. 1923. p. 912. — Chwostek, Wien. klin. Wochenschr. 1908. Nr. 14. — Dopter, Ann. Inst. Pasteur. 1909. p. 677. — Dopter et Rapaci, Compt. rend. Soc. Biol. 1910. p. 52. — Klüchin und G. Vigodtschikoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 6. — Shiga, zit. von Calmette.

1) Diese Voraussetzungen haben inzwischen in der Praxis vollständige Bestätigung gefunden; man kann, wie später an der Hand von Statistiken zu zeigen sein wird, den Menschen sehr leicht und sehr schnell für die Dauer einer Ruhrsaison „per os“ immunisieren.

Ueber Paratyphus und Fleischvergiftung.

Experimentelle Untersuchungen zum Kulturbild und zur Pathogenität mit besonderer Berücksichtigung der Kieler Lehre.

[Aus dem Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten, Charlottenburg-Westend (Leiter: Dr. G. Elkeles).]

Von **Gerhard Elkeles.**

Mit 4 Abbildungen und 1 Kurve im Text.

Die vorliegenden Untersuchungen über die als Paratyphus und Fleischvergiftung bezeichneten Erkrankungen nehmen ihren Ausgangspunkt von der Görbersdorfer Epidemie (1) Ende Juli 1924. Durch diese große, die Oeffentlichkeit lebhaft beschäftigende Epidemie wurde das Paratyphusproblem (im weitesten Sinne) wieder in den Brennpunkt des Interesses gerückt, und ehe noch die Erinnerung verblassen konnte, setzte die ungewöhnliche Häufung paratyphöser Erkrankungen ein, die wir im letzten Jahre erlebt haben.

Es ergab sich daher in diesem Jahre besondere Gelegenheit, den „Paratyphus" in allen seinen Erscheinungsformen zu studieren, eine Aufgabe, die in den vorhergehenden Jahren in größerem Umfange von der Kieler Schule bearbeitet worden war und dort zu sehr bemerkenswerten, neuartigen Ergebnissen geführt hatte. Bei meinen Untersuchungen schälten sich aus dem großen Problem vornehmlich zwei Aufgaben heraus: 1) die Nachprüfung der von der Kieler Schule gewonnenen Ergebnisse am eigenen Material und in eigenen Versuchen und 2) das Studium der Gründe für die vergiftende Wirkung Paratyphus-infizierter Speisen.

Durch die zahlreichen Veröffentlichungen der Kieler Schule (2) ist ihre Lehre Gemeingut der Bakteriologen geworden. Die Grundzüge seien daher nur kurz folgendermaßen zusammengefaßt.

Durch die Untersuchungen der Kieler Schule wird die Zweckmäßigkeit und Richtigkeit der von Bollinger und Schottmüller geschaffenen Einteilung der Paratyphen in die typhöse und gastroenteritische Form in Frage gestellt. Diese beiden klinischen Haupttypen der menschlichen Paratyphus-Erkrankung werden vielmehr durch bestimmte, von einander unterscheidbare Bakterienarten hervorgerufen, die typhöse Form durch den Bazillus Paratyphi B, die toxisch-enteritische durch den Breslau-Bazillus (Kaensche) oder den Gärtner-Bazillus. Die Paratyphus B-Bazillen (im folgenden nur mehr kurz B-Bazillen genannt) sind im Gegensatz zu den Breslau- und Gärtner-Bazillen an den Menschen gebunden und kommen im Tierreich nicht vor, nur die letzten beiden Typen sind mithin eigentliche Fleischvergifter. Der Name Paratyphus soll daher ausschließlich dem B-Typ vorbehalten bleiben, die Breslau- und Gärtnerform ist als Fleischvergifter- oder Enteritisgruppe zu bezeichnen. Die bakteriologische Unterscheidung der drei Arten ist in einwandfreier Weise durch folgende Kennzeichen möglich.

Kolonien von B-Bazillen bilden stets einen Schleimwall (v. Drigalski, B. Fischer, Festschr. f. R. Koch, 1903) von charakteristischer Radiärstreifung, der aber unter Umständen nur mikroskopisch wahrnehmbar ist. Gärtnerbazillen zeigen schlechtere, Breslaubazillen niemals Wallbildung. Die Schleimbildner rutschen auf Schräggelatine und bilden auf Raffinoseagar Tochterkolonien, die andern nicht. Die B-Bazillen sind nicht fütterungspathogen für weiße Mäuse; wenn eine mit B-Bazillen

gefütterte Maus stirbt, so findet man nie in ihrem Blut Bazillen, es sei denn, sie stirbt durch Mobilisation saprophytisch zufällig in ihrem Darm anwesender Enteritisbazillen an Enteritisseptikämie. Die Fleischvergifter führen stets eine tödlich septikämische Erkrankung der gefütterten Maus herbei. Die B-Bazillen werden meist noch mehr oder weniger lange Zeit nach Ueberstehen der Krankheit ausgeschieden und geben daher oft zu Kontaktinfektionen Veranlassung, die Fleischvergifter sind überhaupt nur ganz im Beginn der Krankheit nachweisbar und verursachen so gut wie nie Kontaktinfektionen. Durch Sera von genügender Monovalenz und Titerhöhe sind die drei Arten eindeutig voneinander abgrenzbar.

Zur Stützung dieser Lehre ist eine Fülle kritischer bakteriologisch-serologischer und epidemiologischer Untersuchungen aus der Kieler Schule hervorgegangen, die jedoch nicht zu einer allgemeinen Anerkennung der Kieler Lehre geführt hat. Vielmehr finden sich in der Literatur der letzten Jahre gehäuft kasuistische Mitteilungen von Befunden, die in das Kieler Schema nicht passen, und es häufen sich die Widersprüche gegen das Aufgeben der Bollinger-Schottmüllerschen Einteilung.

Die Kieler Schule hat sich mit den meisten dieser Einwände kritisch auseinandergesetzt, und W. Gärtner (2) hat auch rückblickend die früheren, d. h. vor Aufstellung der Kieler Lehre, beschriebenen Epidemien einer Einordnung in das Kieler Schema unterzogen. Er selbst hebt aber an einer Stelle (S. 511) mit Recht hervor, daß alle Ueberlegungen bei „ungenauer Darstellung der Epidemie mehr oder weniger Spekulation bleiben“, und die vorhandene Literatur ist, vom Standpunkt der Kieler Lehre gesehen, zum größten Teil unvollständig und ungenau. Wenn ich mich also im Folgenden mit dem Für und Wider dieser Frage in der Paratyphus-Literatur beschäftige, so darf ich mich auf solche Mitteilungen beschränken, bei denen eine Messung am Kieler Schema auf Grund ausreichender tatsächlicher Angaben möglich ist.

A. Aus der **klinischen** Kasuistik.

1) Die von Hamburger und Rosenthal (3) beschriebene Paratyphus B-Epidemie.

Als Ursache der Epidemie ist ein Paratyphus B-Bazillen ausscheidender Bäcker bezeichnet, der 2 im Abstand von 6 Tagen angefertigte Crêmespeisen infizierte. Die Erkrankungen zeigten alle nur denkbaren reinen und Uebergangsformen und zwar größtenteils, in 41 Fällen, ein typhöses Krankheitsbild, in 14 Fällen das der akuten Gastroenteritis. Da auch die typhösen Formen teilweise einen akut-toxisch-enteritischen Einsatz hatten, kann man mit Gärtner (l. c.) diejenigen Fälle der gastroenteritischen Gruppe, die — wie Fall 8 und 9 — nach der erstmaligen Entfieberung am 9. Tage einen erneuten 3—4tägigen Anstieg der Temperatur zeigten, allenfalls der typhösen Form zurechnen. Es muß aber den Angaben der Autoren entnommen werden, daß auch Fälle reiner Gastroenteritis zur Beobachtung kamen. Im Rahmen der Schilderung bilden sie eine durchaus natürliche und geradezu zu erwartende Uebergangsstufe zu den als Paratyphus levissimus bezeichneten influenzaartigen Fällen. Nämlich 1. Form: staffelförmiger oder plötzlicher Temperaturanstieg ohne ausgesprochene gastroenteritische Erscheinungen; typhöser Verlauf. 2. Form: Akut toxisch-gastroenteritischer Krankheitsbeginn mit Schüttelfrost und plötzlichem Temperaturanstieg; Abklingen; erneuter staffelförmiger Tempera-

turanstieg und Uebergang in das typhöse Bild (Sattelkurve). 3. Form: akut-toxisch-gastroenteritischer Beginn, Abklingen, direkter Uebergang in Heilung. 4. Form: Levissimus-Form mit angedeuteten subjektiven, allgemeinen, influenzaartigen Krankheitszeichen oder ganz ohne sie.

Die 3. Form stellt den Kieler Typus der Enteritisinfektion dar, paßt daher nicht zum Bilde der B-Infektion. Die Autoren (H. u. R.) haben sie aber beobachtet, und es ist auffällig, daß man in Kiel gerade hierbei einen Beobachtungsfehler annimmt, während man alle Formen, soweit sie noch ins Schema zu bringen sind, ohne weiteres als richtig beobachtet unterstellt.

Die klinischen Verlaufsformen sind im Rahmen der Kieler Lehre aber von besonderer Bedeutung. Denn auf die anderen Einzelsymptome wie Milztumor, Roseolen u. ä. kann man eine Differentialdiagnostik beider Krankheitsformen nicht aufbauen, da diese Zeichen erstens von dem subjektiven Ermessen und der Schwere des Falles in zu hohem Grade abhängen und da ferner alle diese Zeichen bei genauer Berücksichtigung der Literatur sowohl bei der einen wie bei der anderen Form bereits beobachtet worden sind. Dies gilt selbst von den Roseolen. Wenn W. Gärtner 1922 (l. c. S. 495) schreibt: „Bei der gastroenteritischen Erkrankung fehlt in der Vorgeschichte ausnahmslos die Roseola“, so braucht zur Widerlegung nur auf einen Autor der Kieler Schule, nämlich Bitter selbst, zurückgegriffen werden. Bei der „Massenerkrankung an Gastroenteritis nach dem Genuß von geräucherten Makrelen, bedingt durch das Bacterium enteritidis Breslau“ beschreibt Bitter 1920 (4) einen Fall von Verschleppung der Krankheit nach außerhalb, die eine ganze Familie ergriff und bei der hervorgehoben wird: „Beide Töchter hatten deutliche Roseola, eine am 15. Juli außerdem schon eine palpable Milz“.

2) Die von Walser (5) beschriebene Epidemie.

Es handelt sich um 37 Erkrankungen, die innerhalb von 22 Tagen auftraten und als deren „Ausgangspunkt mit Sicherheit eine Konditorei festgestellt“ wurde. Klinisch wurden „alle Uebergänge von einem akuten Magendarmkatarrh oder Cholera nostras zu einem klassischen Typhus abdominalis beobachtet“. Die Epidemie erinnert in hohem Grade an die eben beschriebene, es kann sich wohl nur um eine Paratyphus B-Epidemie handeln. Daher gilt auch für sie das oben Gesagte. Selbst Gärtner gibt zu, daß das Bild zunächst „den Eindruck einer gemischten Epidemie“ mache, doch bestünde bei länger dauernden Epidemien (3 Wochen!?) immer „die Gefahr, daß Fälle mit eingerechnet werden, die ätiologisch nicht hinzu gehören“. Da aber gerade die ersten Fälle, deren Zusammenhang mit der Konditorei feststeht, die akut gastro-enteritischen waren — worauf Gärtner besonders hinweist — und darunter reine Formen von Cholera nostras waren, so zeigt sich hier wie oben, daß auch B-Infektionen dieses Krankheitsbild verursachen können.

3) Der Fall „v. M.“ von Holm und Lewy (6).

Hier handelt es sich um eine Paratyphuserkrankung, die mit akuten gastroenteritischen Erscheinungen einsetzte und dabei wie ein Typhus abdominalis verlief. Den Beweis, daß es sich bei dem Erreger um Breslaubazillen gehandelt hat (H. und L.), möchte ich nicht als

erwiesen ansehen, wenn es auch durch die Absättigungsversuche wahrscheinlich gemacht wird. Denn es fehlt ein genügend sicheres Urteil über das Wallbildungsvermögen und die Fütterungspathogenität. Eins scheint mir jedoch gesagt werden zu können: daß sich der Fall nicht in das Kieler Schema fügt. Waren die Erreger echte Breslaubazillen, dann handelt es sich um eine Fleischvergiftung mit allen Kennzeichen eines typhösen Verlaufs. Handelt es sich um eine Paratyphus B-Infektion (was, wie gesagt, nach den Absättigungsversuchen schwer angenommen werden kann), dann besteht — wenigstens nach Bitter — eine Unstimmigkeit insofern, als die Remission zwischen dem akut-toxischen Beginn und Einsetzen des typhösen Bildes fehlt, die sonst bei den nach Genuß stark bakterienhaltiger Nahrungsmittel auftretenden Paratyphus B-Fällen beobachtet würde. Daß diese Annahme Bitters in dieser allgemeinen Fassung im übrigen zu weit geht, ergibt sich u. a. aus Fall 1 der von Hamburger und Rosenthal (s. o.) beschriebenen Epidemie, aus dem Fall 3 von Rolly (7), den weiter unten zu besprechenden Fällen von Wichels, einem eigenen Falle (s. u.).

4) Fraenkel und Muchs Fälle (8).

F. und M.s Mitteilung hat eine mit so großer Heftigkeit geführte Polemik veranlaßt, daß man nur zögernd die Besprechung wieder aufnimmt. Nichtsdestoweniger muß zum mindesten der erste Fall Berücksichtigung finden, bei dem alle klinischen Zeichen, ja ein klassischer Fall einer durch Nahrungsmittel verursachten Paratyphus B-Infektion vorliegt und bei dem aus dem Blut ein von Bitter bestätigtes echtes Breslaubakterium gezüchtet wurde. Da der Stamm jedoch bei der Prüfung seiner Stellung im Kieler Schema schon 9 Jahre alt war, so käme, wenn durch diesen Fall das Kieler Schema nicht wesentlich durchbrochen werden soll, nur noch die Möglichkeit in Betracht, daß der ehemalige B-Stamm sich in einen Breslaustamm umgewandelt hat. Daß auch darin eine Erschütterung der Kieler Auffassung liegt, braucht nicht besonders betont zu werden, im übrigen komme ich noch weiter unten darauf zurück (S. 331). Wie stellt sich die Kieler Schule nun zu diesem Fall? Bitter (9) sieht als einzige Möglichkeit der Erklärung, daß hier ein Nebenbefund von Breslau-Bazillen vorgelegen habe. Diese Annahme hat — auch nach Bitter — zur Voraussetzung, daß der gezüchtete und ihm übersandte Stamm, „bei dem bedauerlicherweise die Bezeichnung Stuhl- oder Blutstamm fehlte“, aus dem Stuhl gezüchtet und nicht der Blutstamm war. Diese grundlegende Frage wurde nun nicht durch eine Anfrage bei Fraenkel und Much geklärt, sondern Bitter baut seine Verteidigung auf der schwachen und, wie sich erweist, trügerischen Hoffnung auf, der übersandte Stamm sei vielleicht der Stuhlstamm gewesen. Er knüpft an diese Vermutung eine ausführliche Besprechung der Möglichkeit von Mischinfektionen, die er immerhin mit den Worten einleitet: „Es erscheint leicht wie eine Verlegenheitsauffassung . . .“! Bei dem von Bitter angeführten Beispiel einer Mischinfektion mit Typhus- und Breslau-Bazillen liegt der nicht gerade alltägliche Fall vor, daß 2 Typhuserkrankungen bei Geschwistern in eine mehrere 100 Erkrankungen umfassende Breslau-Fleischvergiftungsepidemie fallen und die Typhuskranken mitten unter den Breslau-Kranken liegen. Von ähnlichen besonderen Umständen ist

bei dem Fraenkel-Muchschen Falle nichts bekannt. Im übrigen nimmt Bitter keinen Anstoß daran, daß die Breslau-Bazillen bei seinem Beispiel über 3 Wochen im Stuhle nachweisbar waren, obwohl dies keineswegs zum Kieler Schema paßt; doch könnte dies allenfalls mit den typhösen Darmveränderungen erklärt werden.

5) 2 Epidemien von Wichels (10).

Eine Entgegnung seitens der Kieler Schule oder von anderer Seite liegt m. W. bisher nicht vor. Die Arbeit stammt aus 1924 und ist unter sorgfältiger Berücksichtigung der Kieler Lehre entstanden. Sie beschreibt eine in der Göttinger Augenklinik entstandene, von der Medizinischen Klinik ärztlich beobachtete und vom Hygienischen Institut untersuchte Vergiftung nach Genuß von Fischsülze. Es erkrankten 10 Personen, sämtlich nach einer Inkubation von 3—18 Stunden, 5 davon unter dem klassischen Bilde eines Paratyphus abdominalis, 5 unter akutem toxischem Magendarmkatarrh mit heftigem Erbrechen und z. T. reiswasserähnlichen Durchfällen, mit nur in den ersten Tagen hoher, danach lytisch abfallender Temperatur; Heilung nach 2 bis 12 Tagen. Als Erreger fanden sich in der Sülze, bei sämtlichen typhös Kranken in Stuhl und Blut, bei den Gastroenteritischen nur im Stuhl Paratyphus B-Bazillen, die stets Schleimwälle bildeten und Mäuse bei Verfütterung nicht töteten. Auch eine Kontaktinfektion ist zu verzeichnen. Diese Epidemie dürfte das Vorkommen von Nahrungsmittelvergiftungen durch den Schottmüllerschen Paratyphus B-Bazillus beweisen und ebenso beweisen, daß derselbe Bazillus beide Krankheitsbilder, die typhösen und die gastroenteritischen, zu erzeugen imstande ist. Das Schweigen der Kieler Schule zu diesem Falle ist vielleicht als Zustimmung auch von dieser Seite aufzufassen.

Der 2. Fall, den Wichels beschreibt, betrifft eine Fleischvergiftung in Nörten (Kreis Northeim). Die Gesamtzahl der infizierten Personen beträgt 198. Sie erkrankten sämtlich akut nach einigen Stunden. Der Verlauf war bei etwa $^1/_3$ typhös (ein einwandfreies Beispiel mit enteritischem Einsatz wird beschrieben), bei $^1/_3$ gastroenteritisch, bei $^1/_3$unter dem Bilde von unbedeutendem Durchfall. Der Erreger war der Schottmüllersche Paratyphus B-Bazillus. Nähere Angaben sind, offenbar um Wiederholungen zu vermeiden, nicht gemacht. Doch ist an einer einwandfreien Prüfung auf dem Boden der Kieler Lehre nicht zu zweifeln, da diese Epidemie 2 Jahre später als die erste von Wichels studiert wurde.

B. Aus der bakteriologisch-serologischen Kasuistik.

Auch hier betrachte ich es nicht als meine Aufgabe, das gesamte Material beizubringen, sondern nur einige, möglichst unanfechtbar erscheinende Beispiele anzuführen. Olitzki (11) hat (außer dem Original-Kaensche und einem von auswärts bezogenen Gärtner-Stamm) die 12 Sammlungsstämme des Breslauer Hygienischen Instituts unter dem Gesichtspunkt der Kieler Lehre geprüft. Die Stämme waren größtenteils bis zu 2 Jahre alt, in 2 Fällen (Nr. 5 und 6) älter, in einem Fall (10) ist das Alter nicht angegeben. Von diesen Stämmen erwiesen sich 4 (1—4) als Paratyphus B mit den zugehörigen klinischen und bakteriologisch-serologischen Merkmalen, 4 als Breslauformen und 4 als Uebergangsstämme, die in das Schema nicht ein-

zuordnen waren. Der Kürze halber seien die Uebergangsformen in einer Tabelle wiedergegeben:

Tabelle der vier Uebergangsformen nach Olitzki.

Stamm Nr.	Geprüft	Gezüchtet	Herkunft	Serologisches Verhalten bei Absättigung von		Schleimwallphänomen wie bei	Im Mäusefütterungsversuch wie
				Breslauserum	B-Serum		
5	1922	1906	angeblich echter Paratyphus B. abdominalis	atypisch	atypisch	B	Breslau † nach 7 Tag.
6	1922	1918	seuchenhafter Abort bei einer Stute	atypisch	atypisch	B	Breslau (?) † nach 12 Tag.
7	1922	1921	zwischen echtem Paratyphus und akuter Gastroenteritis stehender Fall	atypisch	wie Breslau	Breslau	Breslau † nach 7 Tag.
8	1922	1920	akute und tödliche choleraähnliche Gastroenteritis	wie B	wie Breslau	Breslau	Breslau † nach 9 Tag.

Wollte man aus den Befunden und Zahlen der Olitzkischen Untersuchung Schlüsse auf die Praxis der Paratyphusinfektionen ziehen, so würde sich ergeben, daß bei $^1/_3$ aller Fälle Abweichungen vom Kieler Schema zu erwarten sind. Es läßt sich leicht der Einwand erheben, daß die Laboratoriumsstämme über die Beschaffenheit des frisch gezüchteten Erregers kein maßgebendes Urteil zulassen, ein Einwand, dessen grundsätzliche Berechtigung feststeht. Indessen zunächst muß man folgerichtig diesen Einwand auch für die sogenannten „typischen" Stämme zulassen; ist es doch bekannt, daß nicht selten die frisch gezüchteten Erreger in kultureller, biologischer oder serologischer Beziehung ein atypisches Verhalten zeigen und erst in Subkulturen ihre Echtheit erweisen. Vor allem aber möchte ich auf Folgendes hinweisen. Das Schema der Kieler Schule kann nur einen Sinn haben, wenn die Kieler Autoren an einer gewissen Konstanz der Arten innerhalb des Paratyphus festhalten. Denn sonst würde man aus der Natur des Erregers im menschlichen Körper keinen Schluß auf den Fleischvergifter ziehen können. Zu den regelmäßigsten und zuverlässigsten Kennzeichen der enteritischen Fleischvergiftung gehört nun im Gegensatz zu den typhösen Formen nach der Kieler Schule die Fütterungspathogenität der Erreger. Wenn also ein als Erreger gezüchteter Paratyphuskeim diese Fütterungspathogenität in einwandfreier Weise zeigt, so muß man ihm wohl auch umgekehrt die Fähigkeit beimessen, Fleischvergiftungen zu erzeugen. Wenn er dann serologisch oder kulturell oder in beiden Beziehungen auch von den Enteritis-Bakterien abweicht, so bleibt er doch ein Fleischvergifter und kann Fleischvergiftungen erzeugen. Das aber würde dann zunächst wahrscheinlich machen, daß bei der durch ihn erzeugten Nahrungsmittelvergiftung der Keim mit denselben Eigenschaften herausgezüchtet würde und daß so als Folge der Kieler Lehre das Bild einer dem Kieler Schema widersprechenden Epidemie entstehen muß.

Ein für unsere Frage wichtiges, umfangreiches Material erbringt Hage (12). Er verfügt über eine große Anzahl von Einzelbeobachtungen, die vom Schema der Kieler Schule abweichen. Bei den echten typhösen Paratyphen hat er auf Originalplatten des Stuhls Abspaltungen wall-loser Kolonien beobachtet. Der von dieser Kolonie gezüchtete Stamm erschien im Stuhl der gefütterten Maus nur in Form walloser Kolonien, bis plötzlich am 8. Tage die einzigen vorhandenen 3 Kolonien der Stuhlausstrichplatte sämtlich kräftig Wall bildeten. Zweimal beobachtete er, daß bei Paratyphus B abdominalis aus dem Blut ausschließlich wallose, aus dem Stuhl ebenso nur wallbildende Kolonien wuchsen (Einfluß des Nährbodens war auszuschließen). Einmal konnte er feststellen, daß eine wallose Abspaltung eines Paratyphus B-Stammes von Breslauserum deutlich besser agglutiniert wurde als die wallbildende Form desselben Stammes. Zweimal sah er bei Gastroenteritis die frisch herausgezüchteten Stämme Wälle bilden, die sich später wieder verloren[1]). Er kommt zu dem Ergebnis, „daß die Wallbildung ein gutes, wenn auch nicht untrügliches diagnostisches Hilfsmittel ist, um den Erreger der typhösen Form des Paratyphus B, den Bacillus paratyphi B Schottmüller festzustellen.“ Und auch von den Fleischvergiftern gelte, „daß man sich nur auf die Wallbildung allein nicht völlig verlassen kann, wenngleich sie in der Mehrzahl der Fälle ein gutes Unterscheidungsmerkmal ist“.

Bei seinen Tierversuchen tötete einmal ein aus dem Stuhl einer Bazillenträgerin gezüchteter wallbildender Paratyphusstamm die gefütterte Maus. Aus Herzblut und Milz wurden die B-Bazillen in typischer Form herausgezüchtet. Aus der Gallenblase einer an Arteriosklerose und Brechdurchfall gestorbenen Frau wurde ein wallbildender B-Stamm gezüchtet, der Mäuse am 5. Tage septikämisch tötete und aus den Mäuseorganen ohne Wall erschien. Das gleiche Ergebnis hatten 2 aus dem Stuhl zweier Fälle von Gastroenteritis gezüchtete wallbildende Stämme. In diesen Fällen lag nach Hage vermutlich eine Infektion mit wallbildenden Breslaubazillen vor. Hinsichtlich des Tierversuchs äußert sich Hage dahin, „daß eine Maus auch an der Verfütterung mit einem echten B-Stamm sterben kann und daß auch die echten Paratyphus B-Bazillen dann bei ihr im Herzblut und der Milz als Zeichen einer Allgemeininfektion gefunden werden können...... Der Tierversuch erleidet hierdurch eine gewisse Einschränkung“.

Mit vollem Recht wendet sich Hage gegen Bitters Geneigtheit, dem Schema zuwiderlaufende Beobachtungen mit der „Mischinfektion“ zu erklären, die eine Folge des häufigen Saprophytismus von Breslaubakterien im Mäusedarm sei und durch eine andere Erkrankung ausgelöst würde. Die Mäuse stürben dann „nicht an dem verfütterten, sondern an einem eigenen, darmbewohnenden Stamm“. Hage sagt sehr richtig: „Wenn das häufiger der Fall wäre, dürften an weißen Mäusen die differentialdiagnostischen Fütterungsversuche gar nicht angestellt werden. Keines der von mir zur Fütterung benutzten Tiere ist zum Versuch herangezogen, ohne daß nicht zum mindesten eine einmalige, meist dreimalige Stuhlentleerung unter Zuhilfenahme der Malachitgrünplatte die Abwesenheit von Bazillen der Paratyphusgruppe dargetan hatte. Es sind niemals solche in meiner Tierzucht gefunden.“

Hierzu möchte ich noch bemerken, daß Mäuse nach Bitter an

1) Einen solchen Fall hat Bitter selbst beobachtet. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 443/45.)

Paratyphus B-Bazillen gar nicht in sichtbarer Form erkranken, daß also nicht zu erkennen ist, warum ihre Verfütterung die hypothetisch-saprophytären Breslaubazillen mobil machen soll. Wenn also Bitter (13) bei der Prüfung der Manteufelschen Stämme an die Maus Nr. 17 Paratyphus B-Bazillen verfütterte und bei ihrem Tode nach 30 Tagen den Breslautyp aus dem Herzblut züchtete, so ist die Erklärung mit einer Mischinfektion durch angenommene Darm-Breslau-Bakterien sehr wenig überzeugend. Hier liegt — auch wenn die Erklärung zunächst fehlt — vielmehr ein Abweichen vom Schema vor. Dasselbe gilt für Bitters Maus 12, bei der nach Breslau-Fütterung und Tod der Maus nach 12 Tagen das Herzblut steril gefunden wurde. Bitter erklärt jedoch auch hier, daß der „Tod nicht auf die verfütterten Bakterien bezogen werden konnte". Ebenso setzt sich Bitter in dieser Arbeit (S. 444) darüber hinweg, daß bei der mit den typischen Breslaubazillen der Osnabrücker Epidemie gefütterten Maus das Herzblut steril war. Dabei handelt es sich hier um einen Hauptstützpunkt der Kieler Lehre!

Diese aus der Paratyphus-Literatur kritisch zusammengestellten klinischen und bakteriologischen Beobachtungen, die nur eine Auswahl von Beispielen sind, zeigen, daß ein nicht zu unterschätzendes Material gegen die Allgemeingültigkeit des Kieler Schemas bereits vorliegt. Sie sollen ferner zeigen, daß die Versuche der Widerlegung dieser Tatsache seitens der Kieler Schule durchaus nicht überzeugend sind. Vielmehr befremdet in diesen Arbeiten die grundsätzliche Ablehnung aller widersprechenden Tatsachen einem starr gehandhabten Schema zuliebe, während alle passenden Beobachtungen ohne dieses Maß von Kritik hingenommen werden. Man kann sich dem Eindruck nicht entziehen, daß die Autoren jener Gefahr nicht entronnen sind, die Bleuler (14) mit den Worten kennzeichnet: „Einer der Grundfehler besteht in der affektiven Einstellung zu einem zu erwartenden Resultat; das wird sich allerdings nie ganz vermeiden lassen, und es hat insofern sein Gutes, als eben nur das affektbetonte Streben über maximale Kräfte verfügen kann; wir müssen uns also darein finden, daß auch in der Wissenschaft wie in unserem Prozeßverfahren die Wahrheit aus einem kraft- und zeitraubenden Kampf zweier Parteien geboren werden soll."

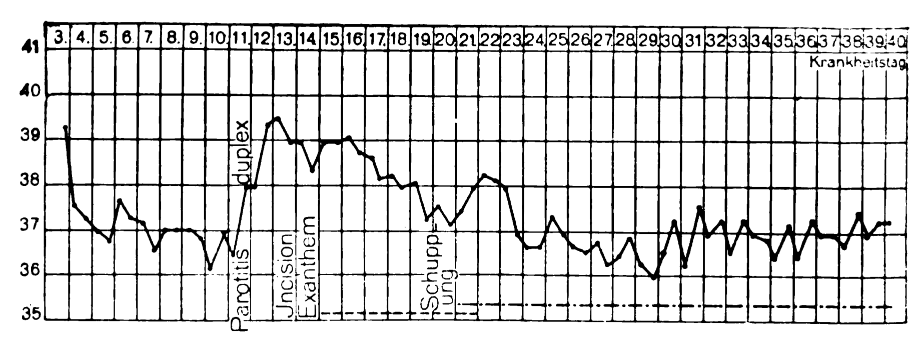
C. Eigene Beobachtungen.

Das von mir unter Berücksichtigung der Kieler Lehre verfolgte Material umfaßt 3 Paratyphusepidemien und 33 voneinander größtenteils unabhängige Einzelfälle von Paratyphus und Nahrungsmittelvergiftung. Von den 33 Einzelfällen lagen 17 in unserem Krankenhaus Charlottenburg-Westend und konnten von mir klinisch mit verfolgt werden; zum Teil habe ich von diesen Patienten eine eigene Vorgeschichte aufgenommen. Diese, vollständiger als die anderen verfolgten 17 Fälle seien vorweg besprochen.

Das Ergebnis der Züchtung waren in 14 Fällen Paratyphus B-Bazillen. Klinisch handelte es sich 8mal um das reine Bild des Typhus abdominalis meist leichterer Form, nur 1 Fall verlief tödlich (A. G., 75 Jahre alt, Tod an Bronchopneumonie). 3mal lag das gemischte Bild der akuten paratyphösen Nahrungsmittelvergiftung mit der sattelförmigen Kurve vor: akuter toxisch-gastroenteritischer Einsatz, Ab-

klingen, erneuter Anstieg und Ausbildung des typhösen Krankheitsbildes. 1mal bestand ein im Anfang von enteritischen Erscheinungen beherrschtes, im übrigen typhöses Bild ohne Sattelkurve, 1mal eine seit Wochen bestehende, zeitweise exacerbierende Gastroenteritis — vermutlich ein verschleppter Fall von Paratyphus, 1mal eine Cholecystitis paratyphosa, die operativ geheilt wurde. Vor einem Jahr soll bei der Patientin eine Leberschwellung bestanden haben, über Paratyphus ist in der Vorgeschichte nichts bekannt.

Der 15. Fall lag folgendermaßen: M. M., Schuhmacherlehrling, aß bei vollem Wohlbefinden mit seinem Meister, der Frau und 2 Kindern, die sämtlich gesund blieben, mittags Brühreis, um 5 Uhr unmittelbar vor Feierabend ein Brot mit Jagdwurst. Auf dem Heimweg stellte sich Frösteln und Mattigkeit ein, Patient legte sich zu Hause alsbald zu Bett. Er schlief zunächst, wachte aber um 3 Uhr nachts mit Leibschmerzen und Uebelkeit auf und mußte erbrechen. Dann schlief er wieder bis zum Morgen, wo er einen diarrhöischen Stuhlgang hatte. Vom Mittag dieses Tages an bis abends 7mal heftiges Erbrechen und Durchfall. Während die Nacht gut verlief, stellten sich morgens wieder Leibschmerzen, Erbrechen und Durchfall ein. Der Stuhl enthielt Schleim und Blutklumpen. Nach vorübergehender Besserung verschlechterte sich sein Befinden gegen Abend wieder. Ein Arzt wurde geholt, der die Ueberführung ins Krankenhaus veranlaßte. Hier ließen sich das toxische Krankheitsbild und die Diarrhöen durch Strophantin, Coffein, Kampfer und intravenöse Traubenzuckerinfusionen gut beeinflussen. Die Zahl der Leukozyten betrug 7400, die der Neutrophilen 90 Proz. Die Temperatur, die bei der Aufnahme 39,4° betrug, stieg am folgenden Tage nicht mehr über 38°, am nächsten und übernächsten nicht über 37,7°. An diesem Tage fanden sich Paratyphusbazillen (s. u.) im Stuhl. Während die nächsten 4 Tage fieberfrei waren, stieg am folgenden, 11. Krankheitstage, die Temperatur an, und es entwickelte sich eine doppelseitige Parotitis, die am 13. Krankheitstage beiderseits inzidiert wurde. Das Fieber sank jedoch nicht ab, vielmehr entwickelte sich nun ein scarlatiniformes Exanthem an Brust und Rücken, das 9 Tage anhielt und dann in Schuppung überging. Die Entfieberung erfolgte am 24. Krankheitstag.



Kurve 1.

Die im Stuhl nachgewiesenen Paratyphuskeime zeigten deutliche, wenn auch nicht üppige Wallbildung. Der Stamm wird von Paratyphus B- und Breslauserum bis zur Titergrenze agglutiniert, von

Gärtner-Serum (Titer 6400) bis zur Verdünnung 1:500. Das Serum des Patienten agglutiniert Paratyphus B- und Breslaubazillen bis 1:400 deutlich, Gärtner-Bazillen bis 1:50. Die mit dem Stamm gefütterte Maus stirbt am 8. Tage nach der Infektion. Bei der Sektion finden sich frische pleuritische Verwachsungen an der linken Pleura diaphragmatica. Herz und Lungen sind im übrigen o. B. Die Milz ist vergrößert, der Darm zeigt die Zeichen einer Enteritis. Das Herzblut erweist sich als steril. Aus der freien Bauchhöhle und der Milz wachsen reichlich Paratyphuskolonien, die mäßige Wallbildung geben. Eine von einer isolierten Kolonie der Originalausstrichplatte des Patientenstuhls angelegte Schrägagarkultur wird in der Sammlung aufgehoben. Von dieser Kultur wird nach $3^1/_2$ Monaten eine Agarplatte unter Erzielung von Einzelkolonien ausgestrichen. Hierbei wachsen alle Uebergänge von kräftig wallbildenden zu wallosen Formen. Die Wallkolonien geben bei Weiterimpfung wieder Wallformen und auf Raffinoseagar Knopfbildung, die wallosen Kolonien bleiben in den Subkulturen ohne Wall und auf Raffinose ohne Knopfbildung. Beide Formen töteten wiederum bei Verfütterung die Mäuse, die wallbildende nach 7, die wallose nach 11 Tagen.

Der 16. Fall war eine unter dem Bilde einer schweren Ruhr verlaufende tödliche Enteritis Gärtner. Die Gärtner-Bazillen konnten jedoch nur sehr spärlich erst bei der Sektion und unter verzögertem Wachstum aus der Milz gezüchtet werden, alle bakteriologischen und serologischen Untersuchungen intra vitam und post mortem — außer der Milz — waren ergebnislos. Es handelte sich um einen sehr schwächlichen, früher schon vielfach kränkelnden jungen Mann von 20 Jahren, der u. a. an Gelenkrheumatismus litt; es fand sich bei der Sektion auch eine frische verruköse Endocarditis mitralis. Die Krankheit begann plötzlich mit Durchfällen, die anfangs wässerig, später blutig waren.

Im 17. Falle wurden bei einem an akuter Dyspepsie erkrankten $^1/_2$-jährigen Säugling Breslau-Bazillen im Stuhl nachgewiesen. Die klinische Beurteilung des Falles ist schwer, weil das Kind den größten Teil seiner Erkrankung ohne ärztliche Behandlung zu Hause durchgemacht hatte. Es kam erst am 12. Tage nach dem Beginn der Durchfälle ins Krankenhaus. Hier wurde eine gleichzeitige Angina mit doppelseitigen Belägen festgestellt. Es bestanden blutige Durchfälle, die Temperatur schwankte zwischen 38 und 39°, und am 7. Tage nach der Einlieferung starb das Kind, nachdem sich in den zwei voraufgegangenen Tagen das Befinden gebessert hatte, die Angina abgeklungen schien und die Stühle zwar noch diarrhöisch, aber frei von Blut geworden waren. Die Sektion des Kindes wurde von den Angehörigen verweigert.

Der in diesem Falle isolierte Breslaustamm zeigte eine große Variabilität. Er spaltete sich bei fraktionierter Aussaat in 2 Typen, deren eine alle Wachstumseigentümlichkeiten der Breslau-Kolonien trug: Keine Wallbildung, keine Knöpfe auf Raffinoseagar, Rosettenform, Einwachsen in den Nährboden (s. u.), während dem anderen Typus bei sonst gleichen, auch serologisch gleichen Eigenschaften die Rosettenform fehlte. Diese glatte Form spaltete ihrerseits eine typische B-Variante ab: Mächtige Wallbildung, reichlich Knöpfe auf Raffinoseagar, kein Einwachsen in den Nährboden, die gefütterte Maus bleibt im Gegensatz zur Rosettenform am Leben.

In den nicht selbst beobachteten 16 Fällen wurden 8mal Para-

typhus- B-Bazillen nachgewiesen. Unter diesen war, soweit sich nach den mir gemachten Angaben Schlüsse ziehen lassen, nur 1 Fall, der sich in das Bild des Paratyphus B abdominalis nicht einzufügen scheint. Es handelt sich um einen $2^1/_2$jährigen Knaben, der am 29. 11. mit wässerigen Durchfällen erkrankte. Am 3. 12. wurden die Stühle ruhrartig, bald darauf trat Besserung ein, so daß das Kind am 10. 12. schon wieder ausging.

8mal wurden Breslaubazillen festgestellt; in 7 Fällen lag das Bild der unkomplizierten akuten Gastroenteritis vor. Erwähnenswert erscheint mir dabei der Fall des Vaters und Sohnes D., weil bei ihnen anscheinend eine Kontaktinfektion vorliegt. Am 22. 7. 1925 erkrankte nämlich eine Frau M. an akutem Magendarmkatarrh. Zu ihrer Pflege zog ihr Schwiegersohn D. mit Frau und Kind in ihre Wohnung. Am 24. 7. erkrankte der Schwiegersohn und ziemlich zu gleicher Zeit das Kind an unkomplizierter Gastroenteritis; bei beiden wurden im Stuhl Breslaubazillen nachgewiesen.

Im 8. Falle erkrankte die 48jährige Patientin (H. C.), nachdem sie sich schon ca. 3 Wochen krank gefühlt hatte, mit Uebelkeit, Erbrechen und profusem Durchfall. Am 3. Tage darauf stand sie, da es ihr besser ging, wieder auf, mußte sich jedoch nach Genuß von Erbsen und Weintrauben am selben Tage erneut mit Leibschmerzen, Durchfall und Erbrechen zu Bett legen und wurde jetzt dem Krankenhause überwiesen. Es wurden am Tage darauf im Stuhle Paratyphusbazillen vom Breslautyp festgestellt. Bei sorgfältiger Diät und Wartung zeigte die Pat. im Krankenhaus keine objektiven Krankheitszeichen mehr, hatte insbesondere weder Durchfall, noch Temperaturerhöhung, dagegen blieben die Bazillen weiter nachweisbar. Sie wurde daher nach 18 Tagen als Bazillenausscheiderin entlassen. Schon am Tage darauf erkrankte sie aber erneut mit Erbrechen, Frostgefühl und den Zeichen einer Gallenblasenentzündung. Nach sofortiger Rückverlegung ins Krankenhaus hatte sie eine Woche lang remittierendes Fieber und Schmerzen in der Leber- und Gallenblasengegend, später noch vereinzelte Temperaturzacken; die Breslaubazillen waren noch 4 Wochen lang nachweisbar. Am 36. Tage konnte sie als geheilt und bakterienfrei entlassen werden.

Der isolierte Stamm hatte alle Kennzeichen der Breslaubazillen. Die Einzelkolonien bildeten keine Wälle, keine Knöpfe, wuchsen in Rosettenform und unter Verwurzelung im Nährboden, sie waren aber *nicht* fütterungspathogen. Serologisch wurden sie, wie fast alle Breslaustämme, von B- und Breslauserum kräftig bis zur Titergrenze agglutiniert, von Gärtnerserum gar nicht.

Bei den 3 von uns untersuchten Fleischvergiftungsepidemien wurden bei den Erkrankten und im Nahrungsmittel übereinstimmend 2mal Gärtner-, 1mal Breslaubazillen nachgewiesen. Abweichungen von der Kieler Regel kamen dabei nicht zu unserer Kenntnis.

Die von uns beobachteten Abweichungen von der Kieler Lehre betreffen also bei der ersten Serie

1) Fall Nr. 15 (M. M.), dessen Krankheitsbild und isolierter Erreger keinem der bekannten Typen folgen;

2) Die tödliche Gärtnerinfektion (Fall 16), bei der entgegen der Angabe *Bitters* (15), „daß bei Leichen Bact. enteritidis *Gärtner* und Breslau regelmäßig in allen Organen nachgewiesen wurden", die Gärtnerbazillen allenthalben fehlten und mit größter Mühe, unter Ver-

zögerung und sehr spärlich nur in der Milz nachweisbar waren; bei der zweiten Serie

3) 2 Breslaufälle, die durch Kontaktinfektion entstanden anzunehmen sind;

4) der letzte Fall (H. C.), der unter den Zeichen eines Paratyphus B verlief, bei dem aber nichtfütterungspathogene Breslaubazillen als Erreger festgestellt wurden, die eine Cholecystitis verursachten und von der Patientin mindestens 7 Wochen lang ausgeschieden wurden.

Der Fall 17 der ersten Serie läßt sich nicht sicher beurteilen.

Die Uebersicht über dieses Material ergibt, daß auch meine Beobachtungen in einem sehr überwiegenden Prozentsatz die Feststellungen der Kieler Schule bestätigen. Auch ich bin darum zu der Ueberzeugung gelangt, daß die Kieler Lehre eine in hohem Maße verdienstvolle und praktisch wertvolle Bereicherung unseres Wissens darstellt.

Oben wurde gezeigt, daß nach der vorliegenden Literatur von der Kieler Regel nicht selten sehr beachtenswerte Abweichungen vorkommen, die mir zu sorgfältiger Prüfung zu zwingen schienen, ob mit den der Kieler Schule zu verdankenden Erkenntnissen schon das letzte Wort in der Paratyphus- und Fleischvergiftungsfrage gesprochen sei.

Hier ist gezeigt, daß auch meine eigenen Beobachtungen neben der weitgehenden Uebereinstimmung eine Reihe von Abweichungen vom Schema erkennen lassen.

Obwohl nun aber nach allen ärztlichen Erfahrungen und zumal bei der bekannten Variabilität in der Paratyphusgruppe das Vorkommen klinischer Uebergänge und Abweichungen als das Natürliche und geradezu zu Erwartende erscheint, zeigt die Kieler Schule bisher keinerlei Neigung, ihre zum Dogma erhobene Ueberzeugung den Tatsachen anzupassen und der Wirklichkeit gerecht zu werden. Hierin liegt eine Gefahr. Wenn der bedingungslose Anhänger der Kieler Lehre auch in den meisten Fällen das Richtige treffen wird, so kann der Verlaß auf das Schema — wie man sieht — doch zu großen Irrtümern führen. Auch könnte, wenn die Kritik sich mit den Erklärungen der Kieler Schule und ihren großen Zahlen ohne weiteres zufrieden gibt, ein bedauerlicher und meines Erachtens sehr wenig berechtigter Stillstand in der Paratyphus-Forschung eintreten.

Solange der Streit der Meinungen sich nun bei jedem neuen mitgeteilten Fall einer Abweichung vom Kieler Schema in Disputationen erschöpfte, war bei der bekannten Vieldeutigkeit medizinischer Fragen eine Klärung nicht zu erhoffen. Dagegen schien es aussichtsreicher, die Frage vom exakten Kultur- und Tierexperiment aus anzugehen und sie damit auf den sichereren Boden exakter Forschung zu stellen.

Dieser Aufgabe dienen eine große Reihe von Untersuchungen, über die im Folgenden berichtet werden soll, die jedoch der Kürze halber im wesentlichen nur in ihren Ergebnissen mitgeteilt werden können.

Das Wallbildungsphänomen[1])

Alle Studien über die Wallbildung in der Paratyphusgruppe leiden darunter, daß das keineswegs auf diese Bakteriengruppe beschränkte Phänomen in seinem Wesen ungeklärt ist. Daher fehlen bisher feste Anhaltspunkte für eine systematische Bearbeitung. Mit Regelmäßigkeit — Ausnahmen habe ich ebensowenig wie die Kieler Autoren beobachtet — tritt die Wallbildung nur außerhalb des Brutschranks auf, wobei gleichgültig ist, ob die Kulturen von Anfang an bei Zimmertemperatur gehalten werden oder wie lange auch immer sie zunächst im Brutschrank gestanden haben. Sofern die Kultur noch lebt, kommt selbst nach wochenlangem Aufenthalt bei 37° der Wall noch zur Ausbildung, sobald Uebergang in Zimmertemperatur erfolgt. Daraus könnte man schließen, daß die Verschlechterung der Kulturbedingungen die Ursache der Wallbildung ist. Daß dem nicht so ist, ergibt schon die einfache Beobachtung, daß die Wälle nur an den freien Rändern der Kolonien sich bilden, und zwar besonders dort, wo die Kolonien weit von einander entfernt stehen. Wir sehen ferner, daß Paratyphuskolonien auf dem an Güte hinter einem einfachen guten Nähragar zurückstehenden Endoagar keineswegs besser Wall bilden, daß vielmehr nicht selten die Wallbildung bei gleichzeitiger Aussaat auf Agar und Endoagar auf ersterem gut ausgesprochen ist, auf letzterem völlig fehlt. Ebenso hat der Zusatz von Ascites zum Nähragar nicht wallhemmende, sondern -fördernde Wirkung.

All dies spricht dafür, daß die Schleimform in erhöhtem Maße den Nährboden in Anspruch nimmt und seiner Nährstoffe bedarf. Das entspricht wohl auch im allgemeinen dem Verhalten der teratologischen Wuchsformen, denen eher eine erhöhte, als verminderte Vitalität zukommt.

Da also die Güte des Nährbodens für das Entstehen der Wälle zwar eine allgemeine Voraussetzung ist, aber darüber hinaus keinen eigenen Einfluß hat, so liegt die Vermutung nahe, daß hierfür besondere Reize oder Reizstoffe erforderlich sind. Als ein solcher Reiz ließe sich die Zimmertemperatur auffassen, und als ein Reizstoff chemischer Art hat sich mir das Kochsalz ergeben. Mit Zunahme der NaCl-Konzentration im Nähragar erhöht sich die Schleimwallbildung in steigendem Maße bis zu den Grenzen, wo nicht mehr Bakterienwachstum erfolgt. So kann es z. B. etwa bei 5proz. NaCl, wo zunächst nur ein ganz kümmerliches Wachstum erfolgt, nach einigen Tagen zu extremer Verschleimung kommen. Umgekehrt nimmt die Wallbildung bei Verminderung des NaCl ständig ab und kann z. B. bei kochsalzfreiem Agar, dem etwas Ascites (mit seiner Spur NaCl) zugesetzt ist, trotz guten Wachstums der B-Kolonien ganz ausbleiben. Ersetzen kann der chemische Reiz des Kochsalzes den „Reiz" der Zimmertemperatur anscheinend nicht, da auch auf NaCl-Agar die Wallbildung offenbar nur bei Zimmertemperatur eintritt.

Die zunächst auf das Studium des Wesens der Wallbildung gerichteten Versuche mit Kochsalz haben weiterhin den interessanten Befund ergeben, daß auf dem Kochsalzagar sämtliche zur Gruppe Paratyphus gehörigen Spielarten das Phänomen der Wallbildung zeigen. Wenn auch der echte Paratyphus B

1) Die Versuche wurden teilweise in Gemeinschaft mit Herrn Medizinalpraktikant Fritz Berger angestellt.

hierbei quantitativ oft noch erkennbar an der Spitze steht, so ergab sich, daß auch Breslau- und Uebergangstypen Wallform bis zu einem von Paratyphus B nicht mehr zu unterscheidenden Grade annehmen können. Diese Beobachtung erscheint mir darum grundsätzlich wichtig, weil sie zeigt, daß nicht nur der B-Form, sondern auch den anderen Paratyphusformen, insbesondere dem Breslaubazillus das potentielle Vermögen der Wallbildung innewohnt und daß es so experimentell möglich ist, auch diese Formen mit Wallbildung wachsen zu lassen (s. Fig. 1). Kann man aber überhaupt erst einmal experimentell zeigen, daß ein Reizstoff bei den sogenannten wallosen Formen wallbildend wirkt, dann ist die Folgerung naheliegend, daß auch andere Reize in und außerhalb des Körpers ähnliche Wirkung ausüben. So begünstigte der Zusatz von verdünnter Salzsäure zur Bouillon beim Ausstreichen der darin gewachsenen Breslaukulturen auf normalen Agar das Entstehen von Wällen. In einem Falle, wo den mit Breslaubazillen beimpften Bouillonröhrchen 3, 6 und 10 Tropfen der Salzsäureverdünnung zugesetzt worden waren, wuchsen die Abimpfungen dieser Bouillonröhrchen auf ein und derselben normalen Agarplatte aus dem 3- und 6-Tropfen-Röhrchen ohne Wall, aus dem 10-Tropfenröhrchen in allen Kolonien mit Wall.

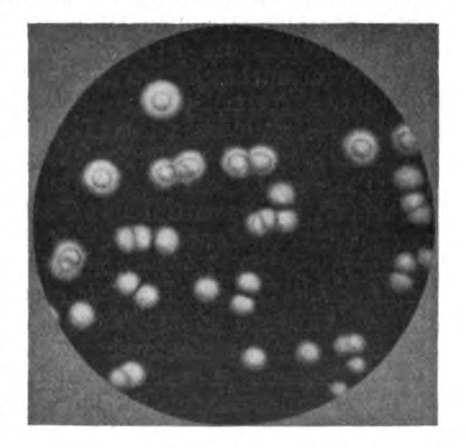


Fig. 1. Künstliche Wallbildung des Görbersdorfer Breslaustammes auf 3proz. Kochsalzagar.

Nimmt man an, daß in besonderen Fällen auch im Körper oder in Nahrungsmitteln Reize dieser oder anderer Art wirksam sein können, so darf man in diesen Versuchen eine experimentelle Stütze für das Auftreten von wallbildenden Breslauformen sehen, wie sie ja in der Tat bereits beobachtet worden sind (z. B. Bitter, Hage, Olitzki, Elkeles.)

Die Wallzüchtung auf Kochsalzagar wurde auch noch in anderer, nicht zum engeren Thema gehörenden, Richtung weiter verfolgt. Es ist bekannt, daß durch Tier- und Kulturpassagen die Paratyphusbazillen tiefgreifende Veränderungen ihrer Lebenseigenschaften erfahren können. Diese Veränderlichkeit ist ja eine wahre Crux beim diagnostischen und experimentellen Arbeiten mit Paratyphus. Glauben wir in einem Falle eine solche Spielart vor uns zu haben oder ist einmal eine neue Spielart ganz offensichtlich unter unseren Augen entstanden, so steht meist die aufgewandte Mühe, die Abart in die Ausgangsform zurückzuwandeln, im umgekehrten Verhältnis zum Erfolg. Vielleicht kann hier die Züchtung auf Kochsalzagar wenigstens eine Hilfe sein. Voraussetzung ist, daß die Entstehung von Schleimwällen auf Kochsalzagar nicht eine allgemeine Eigenschaft der Bakterien, und zwar namentlich in der Typhus-Coli-Ruhrgruppe ist. Ein auf Paratyphus verdächtiger Keim wäre dann, wenn er sich biologisch wie Paratyphus verhält, ohne mit einem der Seren Agglutination zu geben, oder wenn auch das biologische Verhalten in dem einen oder anderen Punkte abweicht (zu schwache oder fehlende Gasbildung, angedeutete Indolreaktion o. ä.) hinsichtlich seiner Wallbildung auf Kochsalzagar zu prüfen. Unsere eigenen Versuche darüber sind noch nicht abgeschlossen. Das Optimum der Kochsalzkonzentration scheint für diese Prüfung bei 2—$2^1/_2$ Proz. zu liegen, und als verdächtig kommt auch nur solche Wallbildung in Betracht, die erst beim Uebergang zur Zimmertemperatur (nicht schon vorher im Brutschrank) eintritt.

Ebenso wie die Wallbildung normalerweise gewissen, von allen Seiten anerkannten Schwankungen unterliegt, gelingt es auch nicht mit

jedem Breslaustamm und nicht in jedem Versuch in gleichem Maße, die Wallbildung auf Kochsalzagar hervorzurufen, wie es auch B-Stämme von besonderer Festigung gibt, die selbst auf kochsalzfreiem Agar deutliche Schleimwälle bilden.

Wenn die Kieler Schule auf die radiäre Streifung des Walles so großen Wert legt, so möchte ich mich dem vor allem darum anschließen, weil auch nach meinen Erfahrungen nur die Radiärstreifung vor Verwechselungen schützt. Strukturell sind sehr häufig Kolonien verschiedenster Herkunft in eine zentrale und davon deutlich abgesetzte periphere Randzone geschieden; dabei ist meist die Randzone durchscheinender als das Zentrum. Bei der Paratyphuskolonie hingegen ist der Wall undurchsichtig weißlich und radiär gestreift, oft ganz grob schon mit bloßem Auge erkennbar: bei den dichteren Wällen, oft nur mikroskopisch oder doch wenigstens nur mit Lupenvergrößerung wahrzunehmen: bei schwächeren Wällen. Für das diagnostische Auffinden von Paratyphuskolonien ist überhaupt, wie für alles Arbeiten mit Bakterienkulturen, die Lupe durchaus unentbehrlich. Es wäre aber irrtümlich anzunehmen, daß die Radiärstreifung des Paratyphuswalles etwas für diesen Keim Spezifisches ist. Wo immer Wallbildung in Kolonien erfolgt — und das ist z. B. häufig bei Coli-Bazillen in Stuhlausstrichen der Fall — da findet sich auch die radiäre Streifung genau wie bei Paratyphus. Hier schützt nur das vermöge der verschiedenen Zuckervergärung differente Farbenbild auf dem Differentialnährboden vor Verwechselung. Die Radiärstreifung ist vermutlich statisch bedingt wie die Kreisform der Kolonie und als ihre Folge. In sehr zahlreichen Versuchen, nach dem v. Wasielewskischen Vorgehen — durch Auflegen eines Deckgläschens auf die Kolonie und Fixierung durch den Agar hindurch mit Sublimatalkohol — die Keimanordnung in der Kolonie zu studieren, habe ich einmal ein Bild bekommen, das es wahrscheinlich macht, daß die radiären Streifen nichts anderes sind als die Bakterienfäden der schleimigen Randzone, die sich aus räumlichen Gründen radiär längs aneinander legen.

Schwache Wallbildung zu erkennen, ist nur bei spezialistischer Erfahrung auf diesem Gebiet möglich. Darum scheint mir auch wichtig zu betonen, daß in den Fällen schwacher Wallbildung von einem „Wall" gar keine Rede ist. Vielmehr handelt es sich um einen überaus zarten, gestrichelten, mehr oder weniger zusammenhängenden, weißen Belag nur auf einem Abschnitt des freien Randes, der ganz das Bild von „Neuschnee auf den Bergen" gibt. Diese Einzelheiten würde ich nicht erwähnen, wenn ihnen nicht eine hohe diagnostische Bedeutung zukäme. Es ist das große Verdienst der Kieler Schule, dieses von v. Drigalski und Fischer zuerst gesehene Phänomen weiter ausgebaut zu haben. Wenn man das Phänomen erst einmal kennen gelernt hat, so weiß man seine Bedeutung zu schätzen und ist imstande, Paratyphusdiagnosen zu stellen, die dem mit dem Phänomen nicht Vertrauten zu stellen erheblich schwerer werden muß. Eine Verwechselung mit apathogenen Wallbildnern der Coli-Gruppe wird meist vermieden werden können, und so bleibt als einziger, allerdings nicht geringer Nachteil, daß die Wälle praktisch, d. h. bei den in den Laboratorien üblichen Arbeitszeiten erst vom 2. Tage nach der Beimpfung der Platten ab festzustellen sind.

Hinsichtlich der kulturellen Abgrenzung der Breslaubazillen möchte ich noch auf einige, bisher anscheinend weniger beachtete Kennzeichen

hinweisen. Breslaukolonien sind gegenüber den Paratyphus B-Kolonien dadurch ausgezeichnet, daß sie eine starke Neigung haben, sich im Nährboden zunehmend festzuwurzeln. Wenn man die Kultur frisch aus dem Brutschrank nimmt, und in den ersten Tagen darauf, fehlt dies Zeichen oft noch. Versucht man nach einer weiteren Reihe von Tagen eine solche Kolonie mit der Oese abzunehmen, so bleibt trotz vollständiger Abstreifung der Kulturmasse das getreue Abbild der Kolonie auf dem Nährboden zurück (s. Fig. 2).

Häufig erlangt ferner die Breslaukolonie schon in den ersten Tagen nach der Herausnahme aus dem Brutschrank oder erst später ein höchst eigentümliches, am besten mit einem Gulliedeckel oder mit einem Rad mit Speichen vergleichbares oder auch rosettenartiges Aussehen. Hierbei bildet die Kolonie eine immer fester werdende, zusammenhängende Membran, die sich schließlich im Ganzen abheben läßt. Die beobachteten Erscheinungen habe ich bei B-Formen nie gesehen. Sie sind daher zur Trennung der Formen wohl anwendbar. Die Ausbildung der Radspeichenform kann Breslaustämmen auch fehlen, dagegen habe ich bisher nie das Einwachsen in den Nährboden vermißt.

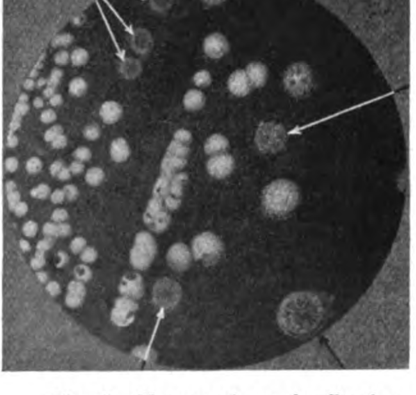


Fig. 2. Verwurzelung der Breslau-Kolonie im Nährboden (die Kulturmasse ist restlos mit der Oese entfernt, das Koloniebild bleibt zurück).

Es ist nun interessant, daß auch bei diesen Phänomenen des Breslaubazillus der Zusatz von Kochsalz zum Agar die Sondereigenschaften des Breslautyps aufhebt; es kommt auf Kochsalzagar also weder zur Bildung der Radspeichenform noch zum Einwachsen in den Nährboden. Und zwar ist dieser Erfolg noch regelmäßiger als die künstliche Wallbildung, die auch schon nur in Ausnahmefällen ausbleibt.

Die künstliche Erzeugung von Wällen auf Kochsalzagar ist bei frischen Kulturen aus dem Menschen oder Tier schwieriger als bei den Subkulturen; diese Beobachtung liegt ganz in der Richtung der weiter unten und an anderer Stelle (La Medicina Germano-Hispano-Americana. 1926) entwickelten Vorstellung von den Variationen in der Paratyphusgruppe.

Angesichts der Tatsache, daß im allgemeinen die wallbildenden, verschleimenden Paratyphusbazillen bei der weißen Maus nicht fütterungspathogen sind, die wallosen Breslaubakterien bei Verfütterung tödliche Infektionen setzen, könnte man geneigt sein, einen Zusammenhang zwischen Wallbildung und Pathogenität anzunehmen. Diese Vermutung wird eigentlich schon entscheidend dadurch widerlegt, daß Gärtner-Bazillen die Schleimwälle des Paratyphus B- und die Fütterungspathogenität des Breslaubazillus haben. Nichtsdestoweniger habe ich diese Frage in vielen und vielartig abgewandelten Versuchen besonders geprüft und bin doch nur zu demselben Ergebnis gekommen, daß ein solcher Zusammenhang nicht besteht. Die beobachteten Unterschiede waren weder zuverlässig, noch lagen sie immer in der erwarteten

Richtung eines Pathogenitätsverlustes der natürlichen oder künstlichen Wallformen.

Hinsichtlich der differentialdiagnostischen Bedeutung des Wallphänomens für die Unterscheidung der B- und Gärtner- von den Breslaukeimen kann ich für die Originalkulturen aus dem verdächtigen Material die Kieler Schule im allgemeinen bestätigen. Auch darin stimme ich ihr durchaus bei, daß in der Regel bei den typhösen Verlaufsformen das wallbildende B. paratyphi B, bei den reinen gastroenteritischen der wallose Breslau- oder wallbildende Gärtner-Bazillus gezüchtet wird. Daß das Schema aber nicht alle Fälle erfaßt, ist im Voranstehenden an fremden und eigenen Beispielen gezeigt worden.

Diese mit den erwähnten Einschränkungen versehene Zustimmung zur Kieler Lehre gilt aber ausschließlich für das originale Züchtungsergebnis aus dem verdächtigen Material. Sowohl die Subkulturen wie die Tierpassagen machen eine zutreffende Charakterisierung unmöglich. Nicht nur beobachten wir den Verlust des Wallbildungsvermögens bei den stärksten Wallbildnern des Paratyphus B, sondern wir sehen ebenso — mit und ohne Tierpassage — das Neuauftreten von Wällen bei Breslaustämmen, die zunächst nicht eine Spur davon gezeigt haben. Vor allem beobachten wir oft früher oder später Abspaltungen in den Kulturen, die doch stets von einer einzelnen Kolonie der Originalkultur des Materials gewonnen sind.

Die Fähigkeit, Wall zu bilden, tritt beim Experimentieren mit Breslaustämmen gar nicht selten in Erscheinung. Aus der Zahl derartiger Beobachtungen erinnere ich nur an den Stamm der Görbersdorfer Epidemie, über dessen Wallbildung ich (16) bereits berichtet habe.

Knopfbildung auf Raffinoseagar.

Von der von der Kieler Schule zur Typentrennung mitbenutzten Erscheinung der Knopfbildung auf 1proz. Raffinoseagar habe ich nur wenig Gebrauch gemacht, obwohl das Phänomen als solches sehr eindrucksvoll ist. Gärtner (l. c. S. 517) sagt, daß Paratyphus B-Bazillen das Phänomen zeigen, daß Breslaubazillen die Knöpfe vermissen lassen oder sie in geringerem Grade zeigen. R. Müller (2) sieht in letzterem praktisch keine wesentliche Beeinträchtigung. Aber gerade für die hier in Rede stehenden Untersuchungen kommen doch in erster Linie solche Merkmale in Betracht, die nach Auffassung der Kieler Autoren völlig zuverlässig sind.

Der Fütterungsversuch an der weißen Maus.

Die große praktische Bedeutung des Fütterungsversuches veranlaßt mich zu einigen technischen und allgemeinen Vorbemerkungen. Ich habe in sämtlichen Versuchen ausschließlich von der natürlichen Fütterung Gebrauch gemacht, also weder die Einträufelung vorgenommen, wie sie in den Arbeiten aus dem Kochschen Institut geübt wird und für das Ziel dieser Versuche jedenfalls das beste Verfahren darstellt, noch die mir ebenfalls völlig einwandfrei erscheinende Methode M. Müllers (17), der die Tiere eine Zeitlang in Kulturaufschwemmungen waten ließ. Die Fütterung erfolgt nur an Mäuse, bei

denen man nach dem Zeitpunkt und der Menge der letzten Fütterung auf Hunger rechnen kann. Auf den Boden des Mäuseglases kommt ein Stück Fließpapier, darauf eine kleine Glasschale oder ein Blockschälchen, das die infizierte Speise enthält. Die Keimaufschwemmungen werden in $^1/_2$ bis 1 ccm Wasser hergestellt, und hierzu wird nur eben so viel Speise (s. u.) zugesetzt, daß die bakterienhaltige Flüssigkeit gerade vollständig aufgesogen wird. Diese geringe Portion wird dann von der Maus in kurzer Zeit restlos gefressen, und so gibt die Methode bei richtiger Durchführung wohl auch quantitativ verwertbare Ergebnisse. Als Speise wurde fast stets Brot gegeben; wo Abweichungen bestehen, wird dies besonders angeführt. Für einige Versuche nämlich, in denen es mir auf möglichst vollständige Nachahmung der natürlichen Verhältnisse ankam, habe ich Fleisch verfüttert. Um hier den namentlich von M. Müller (17) geschilderten Gefahren der Fleischverfütterung als solcher zu entgehen, habe ich bei Fleischverfütterungen entweder nur solche Tiere verwendet, die eine Reihe von Tagen vorher nur Fleisch als Nahrung erhalten hatten, ohne eine Beeinträchtigung ihres Wohlbefindens zu zeigen, oder ich habe dieselbe Speise immer an 2 Tiere gleichzeitig und im selben Käfig verfüttert oder auch für beides gesorgt. Ich muß jedoch hervorheben, daß ich bei uninfiziertem Fleisch Erkrankungen von Mäusen nicht beobachtet habe, vermutlich darum, weil die von Müller genannten schädigenden Nebenumstände (Nässe, Kälte, nicht seuchenfreier Tierbestand) vermieden wurden. Die Tiere werden nach Verabreichung des infizierten Futters nicht sich selbst überlassen, sondern der Fortgang der Nahrungsaufnahme wird aufmerksam beobachtet.

Sorgfältige Berücksichtigung verlangen die individuellen Resistenzunterschiede der Tiere. In der allgemeinen Form freilich, in der neuerdings auf ihre Bedeutung hingewiesen wird, scheint mir nicht immer genügend berücksichtigt zu werden, daß es ein großer Unterschied ist, ob man einen natürlichen oder einen nicht natürlichen Infektionsweg wählt. Wenn man sich einer unnatürlichen Methode, z. B. einer der Injektionsmethoden, bedient, dann treten in der Tat die individuellen Resistenzunterschiede fast ganz in den Hintergrund, sofern man sich an eine genau auf das Körpergewicht berechnete Dosierung hält. Bei der den natürlichen Verhältnissen entsprechenden Fütterungsmethode dagegen treten die persönlichen Unterschiede erheblich mehr in den Vordergrund und verlangen entsprechende aufmerksame Beachtung.

Das Bestechende an den Fütterungsversuchen beim Studium des Paratyphus liegt aber nicht nur darin, daß sich hier ein natürlicher Infektionsweg anwenden läßt, sondern vor allem auch darin, daß dabei die innerhalb der Darminfektionen seltene Gelegenheit gegeben ist, Krankheitsbilder beim Tier zu erzeugen, die eine große Aehnlichkeit mit der menschlichen Pathologie zu haben scheinen. Zutreffend ist von der Kieler Schule gezeigt worden, daß die Fütterungsinfektion mit Breslau- und Gärtner-Bazillen in der Regel einen ganz anderen Verlauf nimmt, als die mit dem Schottmüllerschen Paratyphus B-Bazillus.

Ueber die Pathogenese der Breslau- und Gärtner-Infektion sind wir im wesentlichen durch die ausgezeichneten Untersuchungen M. Müllers (17) gut unterrichtet, deren eigentlicher Zweck es ist, die exakt-experimentelle Grundlage für eine sachgemäße Fleischbeschau zu geben. Von der Virulenz des Keimes, doch vornehmlich von seinem

Toxinbildungsvermögen hängt der Gang der Infektion wesentlich ab. Bei Stämmen mittlerer Virulenz ist der Weg der Infektion folgender: Darmlumen / Darmwandfollikel / Mesenterial-, Hals-, Kniefalten- und Achseldrüsen/Leber und Milz/Blut. Auf diesem Wege kommt es schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit, etwa nach 1—2 Tagen, zu einer allgemeinen Septikämie; im Blut und in allen Organen werden die Keime gefunden. Diesen ersten allgemeinen Keimeinbruch überwindet der Körper des Tieres vollständig; einen Tag später erweisen sich alle Organe frei von Bakterien — mit Ausnahme des Lymphapparates. Hier fassen die Keime festen Fuß und von hier aus brechen sie nach kurzer Zeit auf dem Wege über die Leber und die Milz von neuem in die Blutbahn ein, wobei sich jetzt das Blut und die Organe den Bakterien gegenüber als widerstandslos erweisen, so daß es binnen kurzem zum septikämischen Tode kommt. Ich kann nach meinen Untersuchungen vollauf bestätigen, daß dies mit großer Regelmäßigkeit der Gang der Infektion ist, daß man bei fortlaufenden Schwanzblutentnahmen nicht lange nach der Infektion die Keime nachweisen kann, daß sie aus dem Blut darauf verschwinden, um nach einigen Tagen wieder aufzutreten, daß die Zunahme im Blut unter fortlaufendem Sinken der Körpertemperatur dann rapide erfolgt und beim Tode des Tieres sämtliche Organe und ihre Oberflächen von den Bakterien überschwemmt sind. Sind die Keime nur schwach virulent, so vermögen sie nicht über den lymphatischen Apparat hinaus ins Blut einzudringen, können aber wochenlang im Lymphsystem, etwa in den Mesenterial- oder Halsdrüsen nachgewiesen werden. Dieses Verhalten gleicht also dem derjenigen pathogenen Darmbakterien, gegen die die weiße Maus bei Verfütterung eine beträchtliche Resistenz besitzt, wie es z. B. für den Typhusbazillus von Remlinger (18), Wiener (19) und letzthin von Amalie Adler (20) beschrieben worden ist. Sind die Keime von besonderer Virulenz, dann kann ein unmittelbarer Uebergang großer Bakterienmengen aus dem Darm in das Blut stattfinden. Hierbei kommt es nach meinen Beobachtungen ebenfalls zu einer kräftigen Abwehrreaktion des Körpers, die zu einer energischen Keimvernichtung führt. Erliegen hierbei die Tiere der Ueberschwemmung mit Endotoxinen, so kann man das Blut und auch die Organe keimarm oder keimfrei, dafür aber alle Zeichen der Toxinvergiftung finden.

Paratyphus B-Bazillen sind im Gegensatz dazu nach der Kieler Lehre apathogen. Diese Angabe bedarf jedoch einer Einschränkung dahin, daß es in der Tat meist nicht zu einem tödlichen Ausgang der Infektion kommt. Deswegen aber anzunehmen, daß die Verfütterung dieser Keime keinerlei krankmachende Wirkung hat, wäre irrig. Man kann oft genug subjektiv eine Beeinträchtigung des Tieres bei sorgfältiger Beobachtung feststellen. Man kann ferner objektiv bald nach der Verfütterung das Auftreten der Paratyphusbazillen im Blut feststellen und man kann die sehr auffallende, immer wiederkehrende Beobachtung machen, daß eine eigentümliche Neigung zur Einwanderung saprophytischer Keimarten in das Blut und die Organe auftritt. Tötet man dann nach einigen Tagen oder auch nach längerer Zeit eine solche Maus anscheinend aus voller Gesundheit, so kann man neben einer deutlich vergrößerten Milz und Mesenterialdrüse und neben herdweisen Verfettungen und Kernhyperplasien der Leber, in den Lymphdrüsen der Bauchhöhle oder in anderen Lymphdrüsen oder auch in der Milz die Paratyphusbakterien finden und hierbei auffallenderweise meist

nicht in Reinkultur, sondern vergesellschaftet mit anderen saprophytären, vermutlich Darmkeimen. Endlich aber kann man als objektives Zeichen der Erkrankung auch gelegentlich den meist sehr spät erfolgenden spontanen Tod der Tiere beobachten, wobei man einen, dem eben erwähnten ähnlichen Befund erheben kann. Man muß in solchen Fällen wohl annehmen, daß aus dem bakterienhaltigen Lymphapparat ständig kleine Mengen von Giften in das Blut übergehen, die zu den Veränderungen der Milz und Leber und gegebenenfalls zum Tode des Tieres durch Marasmus führen, oder daß hinzutretende Schädigungen anderer Art, die an sich nicht den Tod verursachen würden, das geschwächte Tier töten. Bemerkenswert ist, daß der Todeskampf sich bei Paratyphus B-Infektionen außerordentlich lange hinzieht. Mäuse, die nach dem Erfahrungsbild bei der Breslau- und Gärtner-Infektion unmittelbar vor dem Exitus zu stehen scheinen, leben manchmal noch 48—72 Std. lang, wobei sie ständig das schwerste Krankheitsbild bieten, fast nichts fressen, unbeweglich sitzen und sehr verlangsamt atmen. Auch das Bild des Sterbens ist also bei diesem toxischen Tod ein ganz anderes als bei der infektiösen Verlaufsform. Aus der Zahl der Beispiele seien zwei solche Fälle angeführt.

1. Fall (aus Versuch 56, M. 1). Eine mit 4 Oesen Paratyphus B-Kultur gefütterte Maus zeigt bei Schwanzblutabimpfung nach 3 Std. 1 B-Kolonie, nach 24 Std. 4 B-Kolonien und einige sekundäre Keime (kurz: Sek.), nach 2 Tagen 1 Sek., nach 3 Tagen einige Sek., nach 5 Tagen ist das Schwanzblut steril. Das Tier ist in diesen ersten Tagen zeitweilig sichtlich nicht wohl und reagiert vermindert auf Reize. Später macht es fast ständig einen normalen Eindruck. Nach 12 Tagen wird das Tier getötet. Die Milz ist etwa aufs Doppelte vergrößert, die Leber und der Darm o. B. Leicht vergrößerte Mesenterialdrüse. Kulturell finden sich bei Verimpfung größter Organmengen im direkten Plattenausstrich des Herzblutes keine Bakterien (nach 2mal 24 Std. kommen einige Sek. heraus), freie Bauchhöhle steril; Milz 1 Sek., Leber massenhaft Sek., darunter vielleicht auch veränderte Paratyphuskolonien? (Auf Differenziernährböden wie Paratyphusbazillen, jedoch keine Wallbildung und keine Agglutination mit Paratyphusserum.) Mesenterialdrüse reichlich, kräftig wallbildende Paratyphuskolonien und in Kümmerform wachsende Sek. In der Gallenaussaat der Lunge und Mesenterialdrüse reichlich typische Paratyphusbazillen, bei letzterer in Gemeinschaft mit Sek.

2. Fall (Pat. M. Nr. 5154). Aus dem Stuhl des an Paratyphus abdominalis erkrankten Patienten werden einwandfreie Paratyphus B-Bakterien gezüchtet. Fütterung einer Maus mit der 1. Subkultur. Am 3. und 5. Tage nach der Infektion war die Maus kränklich, sonst nicht sichtlich krank. Am 40. Tage ist das Tier deutlich krank, am 42. stirbt es. Die Sektion ergibt in der rechten Lunge bronchopneumonische Herde, die linke Lunge ist normal. Der Darm zeigt die Zeichen einer Enteritis. Kulturell wurde hier nur das Herzblut und die Leber geprüft; in ersterem fanden sich 6 schwach wallbildende Paratyphuskolonien, die letztere enthielt 1 Sek.

Ergibt sich schon hieraus, daß die einfache Feststellung: der Paratyphus B-Bazillus ist für die Maus nicht fütterungspathogen, den tatsächlichen Verhältnissen nicht gerecht wird, so gilt das erst recht, wenn noch besonders ungünstige Begleitumstände vorliegen. Als solche Begleitumstände habe ich erstens voraufgegangenes Hungern festgestellt, doch muß das Hungern bis zu einem hohen Grade getrieben werden. Als schädigende Ursache physiologischer Natur, die anscheinend mit Regelmäßigkeit den Tod des mit Paratyphus B gefütterten Tieres herbeiführt, habe ich Gravidität beobachtet.

Beispiele.

1) (Aus Versuch 56.) Die Maus hatte im Rahmen eines 9 Tiere umfassenden Versuches 1 Oese Paratyphus B-Stamm erhalten. Am 8. Tage nach der Fütterung

stirbt sie, ohne daß schwerere Krankheitszeichen vorangegangen wären. Die Leber ist vergrößert, der Darm entzündet; im übrigen weisen die Organe makroskopisch keinen krankhaften Befund auf; sie erweist sich als tragend. Herzblut, freie Bauchhöhle, Milz, Leber steril (es wurde nur auf feste Nährböden abgeimpft).

2) (Aus Versuch 52.) Die Maus hatte im Rahmen eines 16 Tiere umfassenden Versuches Paratyphus B-Bazillen mit Filtrat einer Bouillonkultur desselben Stammes gemeinsam erhalten. Es liegen Kontrollen vor, daß das Filtrat als solches völlig wirkungslos war. 6 Tage nach der Fütterung wird bemerkt, daß die Maus tragend ist. Sie scheint weniger munter. 2 Tage später bringt sie 4 Junge zur Welt, die sie alle anfrißt. Sie ist jetzt schwer krank, der Tod erfolgt aber erst 2 Tage später. Die Abimpfung ergibt aus dem Herzblut und der Leber mäßig zahlreich (27 und 40), aus der Milz (2) und Niere (3) vereinzelte Paratyphus B-Kolonien.

Die in diesem Kapitel mitgeteilten Beobachtungen beweisen also durch den Tierversuch, daß unter normalen und besonderen Umständen Fütterungen mit Paratyphus B-Bazillen den Tod des Tieres herbeiführen können. Findet sich hierbei aber in der Regel nach Dauer der Erkrankung, pathologischem Organbefund und Kulturergebnis ein von der Breslau- und Gärtnerinfektion mehr oder weniger abweichendes Bild, so wird im nächsten Abschnitt — in anderem Zusammenhang — gezeigt werden, daß noch andere Möglichkeiten für das Angehen tödlicher B-Infektionen bestehen und daß dabei ein der Breslauinfektion völlig gleichendes Bild entstehen kann.

Versuche zur Erklärung besonderer Verlaufsformen und zur Entstehung von Epidemien.

Nach zum Teil gemeinsamen Versuchen mit den Herren Berger und Machnitzki und Fräulein Alice Schneider.

In meinen ersten Versuchen über das Entstehen von Epidemien ging ich von dem Muster der Görbersdorfer Epidemie aus. Wir infizierten Süßspeisen mit dem Görbersdorfer, aus der Milz des verstorbenen Oberarztes gezüchteten Stamme und wandelten nun die Versuchsbedingungen in verschiedenster Weise ab, untersuchten den Einfluß des Aufhebens bei verschiedenen Temperaturen, den Einfluß von alkalischer und saurer Reaktion, prüften das Auftreten von Toxinen in den verschiedensten Kombinationen, sowie die Bedeutung der Zimmerwärme und der Kälte. Ausgehend von der Erfahrungstatsache, daß die bei Gewittern herrschenden atmosphärischen Verhältnisse das Verderben von Nahrungsmitteln außerordentlich begünstigen, traten wir auch einer experimentellen Prüfung dieser Frage näher. Ich konstruierte zu diesem Zwecke eine Kiste, in deren oberen Teil 2 gegeneinander anzunähernde Pole eingeleitet wurden, die ihrerseits mit den Polen des Induktionsapparates in unserem Röntgenhaus verbunden wurden. Auf den Boden der Kiste kam ein offenes Schälchen mit Speise, und um die nötige Gewitterschwüle zu erzielen, wurde auf den Boden der Kiste eine offene Schale mit Wasser gestellt und die Kiste im ganzen auf den Heizkörper gesetzt. Dann ließ ich in Abständen von 1—2 Std. mehrmals 10 Minuten lang auf ziemlich lange Strecken die Funken überspringen und erzielte so eine ozonisierte Gewitteratmosphäre in der zugedeckten „Gewitterkiste". Um es kurz zu sagen, in keinem dieser Versuche, die außer mit Breslaubazillen auch stets mit B-Bazillen angestellt wurden, gelang es, ein anderes Krankheitsblid zu erzielen als mit der künstlich infizierten frischen Speise.

Spätere Versuche beschäftigten sich mit dem Zustandekommen der Fleischvergiftung. Auch hier suchte ich Versuchsbedingungen zu schaffen, die den natürlichen Verhältnissen nach Möglichkeit gleichkommen sollten.

Kaninchen, die von der Blutbahn her mit Paratyphusbazillen infiziert waren, wurden nach Ablauf von etwa 5—6 Tagen, als bereits beträchtliche Abmagerung und Schwäche des Tieres bestand, unter Entbluten getötet, „notgeschlachtet". Aus den inneren Organen, die stets — ebenso wie die Muskeln — mit Paratyphusbazillen überschwemmt waren und oft schon pathologische Veränderungen aufwiesen, wurde ein Brei hergestellt, ebenso auch aus den Muskeln oder auch aus beiden gemeinsam, und dieser Brei wurde dann unter den oben angeführten Vorsichtsmaßregeln an Mäuse verfüttert. Bei einiger Sorgfalt kann man einen Brei erhalten, der — selbst in der Bouillonkultur — ausschließlich die Paratyphuskeime enthält. Auch diese Versuche wurden sowohl mit B- wie mit Breslaubazillen angestellt.

Nachdem auf diese Weise eine Speise gewonnen war, die dem Fleisch eines paratyphuskranken notgeschlachteten Tieres weitgehend ähnelte, wurde bei der Verfütterung die Klärung folgender Fragen angestrebt.

Es sollte festgestellt werden, ob und unter welchen Umständen Paratyphus B-Bazillen, wenn sie in dieser Form dargereicht werden, krankmachende und tödliche Wirkung nach dem Muster der Breslauinfektion haben können. Ebenso sollte festgestellt werden, ob eine so gewonnene Breslau-Speise unter besonderen Bedingungen ein von der klassischen septikämischen Verlaufsform abweichendes, der B-Erkrankung ähnelndes Bild hervorrufen kann. Ließen sich diese Möglichkeiten experimentell dartun, dann war durch den Tierversuch eine experimentelle Stütze dafür erbracht, daß auch in der menschlichen Pathologie mit Verlaufsformen zu rechnen ist, die von dem für den betreffenden Erreger geltenden „klassischen" Typus abweichen.

Ein solcher Schluß auf die menschliche Pathologie erschien aber zunächst nur dann zulässig, wenn die Versuchsbedingungen nicht Faktoren einführten, die der natürlichen menschlichen Infektion fremd sind, vielmehr gerade solche Faktoren berücksichtigten, die bei der Zubereitung menschlicher Nahrungsmittel eine Rolle spielen. Auf diese Weise ließen sich vielleicht gleichzeitig Einflüsse kennen lernen, die beim Genuß infizierter Speisen eine besondere krankmachende Wirkung entfalten.

Die beim Transport, der Zubereitung und Aufbewahrung von Fleisch häufigsten Einflüsse sind die Kälte (Packung in Eis, Aufbewahren auf Eis) und das Salzen.

Die Bedeutung der Abkühlung wurde in folgendem Versuch geprüft.

Versuch 51. Ein in der oben beschriebenen Weise aus den inneren Organen gewonnener Paratyphus B-Brei vom Kaninchen wurde unter den hierunter folgenden verschiedenen Bedingungen an Mäuse aus einer Tierserie verfüttert, die seit einer Woche mit Fleisch ernährt war.

M 1. Der Brei wurde sofort frisch verfüttert, ein zweites Mal am nächsten Morgen, nachdem er bis dahin im Kühlschrank gestanden hatte.

M 2. Der Brei wurde nach $^1/_2$stünd. Aufenthalt im Dampftopf sofort verfüttert, dann noch 2mal an den folgenden Tagen in der trocken-krustigen Form, die er angenommen hatte.

M 3. Der Brei hatte nach der Herstellung bis zur Verfütterung 20 Std. bei Zimmertemperatur gestanden. Am nächsten Tage nochmalige Fütterung; der Brei hatte weiter im Zimmer gestanden.

M. 4. Der Brei war in keimfreies Eis gepackt, blieb so 6 Std. im Kühlschrank bei etwa 10—12°, das Schmelzwasser wurde abgegossen und der Brei dann über Nacht bis zur Fütterung 12 Stunden bei sehr warmer Zimmertemperatur gehalten.

M 5. Der Muskelbrei desselben Tieres wurde frisch verfüttert. Nachfütterung am folgenden Tage mit dem inzwischen bei Zimmertemperatur gehaltenen Muskelbrei.

Nach Beendigung der Fleischfütterung erfolgte in allen Fällen wieder Brotfütterung.

Ergebnis: Maus 1 zeigt keine, 2 und 3 eine leichte und ganz vorübergehende Beeinträchtigung ihres Befindens. Maus 5 erscheint einen Tag lang krank. Alle diese Mäuse bleiben über Wochen hinaus lebend und gesund.

Maus 4, die mit dem „Eisbrei" gefüttert war, ist schon am Nachmittag krank, am folgenden Tage nehmen die Krankheitszeichen zu, sie frißt nicht. Am folgenden Tage zeigt die Maus wechselndes Befinden, erscheint zeitweilig ganz munter, hat auch gut gefressen und erhält jetzt von dem inzwischen vereisten Muskelbrei. Am folgenden Tage, d. h. am 3. Tage nach der Infektion, stirbt die Maus den bei Breslau üblichen Infektionstod, nicht den überaus protrahierten chronisch-toxischen Paratyphus B-Tod. Die Sektion ergibt in der Bauchhöhle etwas fadenziehende Flüssigkeit, eine vergrößerte Milz und Mesenterialdrüse und die Zeichen einer Enteritis, im übrigen makroskopisch keinen krankhaften Organbefund. Kulturell erweisen sich Herzblut, freie Bauchhöhle, Lunge, Leber, Milz, Hoden, M. pectoralis übersät mit Paratyphus B-Kolonien in Reinkultur. Eine Inguinaldrüse enthält eine B-Kolonie; die Mesenterialdrüse mäßig reichlich, die Gallenblase in mäßiger Zahl und in Flatterform B-Kolonien. Alle Kolonien gaben eine langsame, aber mächtige Wallbildung.

Die mit dem stark abgekühlten Paratyphus B-Brei gefütterte Maus ist also als einzige der 5 Mäuse und unter allen Zeichen der klassischen Breslauinfektion zugrunde gegangen.

An dem Tage, an dem diese Maus 4 mit dem vereisten Muskelbrei gefüttert war, wurde mit demselben Eismuskelbrei eine weitere Maus 4a gefüttert. Die Maus 4a, deren Käfig durch den Muskelbrei naß geworden war, wird in einen neuen Käfig gesetzt und erneut mit dem nach der Vereisung bei Zimmertemperatur gehaltenen Muskelbrei nachgefüttert, von da ab mit Brot. Am 4. Tage nach der Fütterung ist das Tier deutlich krank, im Laufe des Tages schwer krank, moribund. Dieser moribunde Zustand hält noch den ganzen folgenden Tag an; am Nachmittag wird das Tier, das kaum mehr aufrecht sitzen kann, durch Nackenschlag getötet (es wurde befürchtet, daß postmortale Ueberwucherung das kulturelle Ergebnis beeinträchtigen könnte). Mit Ausnahme einer sehr vergrößerten Mesenterialdrüse ergibt sich kein krankhafter Organbefund, insbesondere ist die Milz eher kleiner, als der Größe des Tieres entspricht. Kulturell finden sich im Herzblut 1, in der Leber 45, in der Mesenterialdrüse massenhaft Paratyphus B-ähnliche Kolonien in Reinkultur, die keine Wälle bilden und mit B- oder Breslauserum keine Agglutination geben. Ich habe nun auf jede Weise versucht, die Paratyphusnatur dieser Keime, die meines Erachtens gar nichts anderes sein können als die umgewandelten Paratyphus B-Bazillen, nachzuweisen. Weder durch zahlreiche Kulturpassagen, noch durch Absättigung, noch durch Immunisierung eines (wie an dem Verhalten zum Eigenstamm zu erkennen war) gut Antikörper bildenden Kaninchens, noch durch subkutane, in 24 Std. zum Tode der gespritzten Maus führende Impfung und Weiterzüchtung aus diesem Tiere habe ich die Paratyphusnatur des Stammes wiedergewinnen können. Auf den Differenziernährböden verhielt er sich wie Paratyphus, war aber nur in Einzelexemplaren beweglich und bildete schwach Indol.

Dieser Versuch sprach deutlich dafür, daß die Packung der Nahrungsmittel in Eis, die praktisch ja eine große Rolle spielt, die Infektiosität einer Paratyphus-infizierten Speise erheblich steigern kann. Bitter erörtert diese Möglichkeit bereits bei der von ihm beschriebenen Makrelenepidemie in Kiel (l. c.). Zwar handelte es sich bei ihr um eine Breslauepidemie, aber grundsätzlich würde das Ergebnis des Paratyphus B-Versuches wohl auf die Breslauinfektion übertragbar sein.

In dem beschriebenen Tierversuch lag also eine experimentelle Stütze für Bitters Annahme, daß das Eis, auch hinsichtlich der nur teilweisen „Vergiftung" der Makrelensendung, eine ausschlaggebende Bedeutung für den Ausbruch der Epidemie hatte.

Ich habe den Versuch in erweiterter Form noch 3mal wiederholt, 2mal davon mit demselben, einmal mit einem anderen Paratyphus B-Stamm, ohne den gleichen Erfolg zu erzielen, einmal bei Breslaubakterien mit höchst zweifelhaftem Erfolg. Dadurch erleidet die Beweiskraft des beschriebenen Versuches zum mindesten insoweit Einbuße, als die Eispackung mit dem folgenden Temperaturwechsel allein zur Erklärung nicht ausreicht. Vielmehr müssen bei dem Versuch 51 außerdem wohl noch andere Ursachen mitspielen, wie etwa die jeweilige Virulenz der Kultur oder die besondere Beschaffenheit der Keime in dem „notgeschlachteten" Kaninchen. Die individuellen Resistenzverhältnisse der gefütterten Tiere müssen natürlich auch in Betracht gezogen werden; es müßte aber schon ein ganz ungewöhnliches Spiel des Zufalls obwalten, wenn von den 6 Mäusen an den verfütterten Keimen nur die beiden gestorben sind, die die vereisten Breie bekommen haben.

Dieses Ergebnis, so wenig befriedigend es für den einfache und klare Einblicke suchenden Experimentator sein mag, spiegelt jedoch die wahren Verhältnisse vielleicht getreuer wider, als wenn in den Wiederholungen alles „geklappt" hätte. Wir müssen aus mancherlei Gründen annehmen, daß die Gelegenheiten zur Paratyphusinfektion viel häufiger sind als die Erkrankungen. Offenbar hängt es vom Zusammentreffen bestimmter Voraussetzungen ab, ob infiziertes Fleisch Einzel- und Massenerkrankungen hervorruft. Wie dieses Zusammentreffen in der lebendigen Praxis der menschlichen Pathologie und Epidemiologie wohl verhältnismäßig selten erfüllt ist, so gelingt es auch im Tierversuch trotz aller Mühen nur schwer, 2mal unter völlig gleichen Bedingungen zu arbeiten. Wir müssen uns also im vorliegenden Falle mit dem Ergebnis begnügen, daß durch das Tierexperiment eine Stütze dafür erbracht ist, daß

1) B-Infektionen unter dem Bilde der Breslauerkrankung verlaufen können und daß

2) starke Abkühlung (und Wiedererwärmung) einer Paratyphus-infizierten Speise die krankmachende Wirkung der Speise beträchtlich erhöhen und zum Fütterungstode führen kann.

Die Prüfung der Wirkung des Kochsalzes hatte das Ergebnis, daß starkes Salzen die Pathogenität der Breslau- und Paratyphus B-Bazillen außerordentlich steigert.

Im Breslau-Versuch starb die Maus, die $1^1/_2$ Oesen einer 3 Tage alten Breslaukultur in 3proz. Kochsalzaufschwemmung bekommen hatte, nach 24 Stunden, die Kontrollmaus nach 7 Tagen.

Der B-Versuch verlief folgendermaßen:

Versuch 60. Von 4 gleichgroßen Scheiben Weißbrot wurden 2 in eine mit 3proz. Kochsalzlösung hergestellte Paratyphus-Aufschwemmung gelegt, die beiden anderen kamen in eine ebensolche Coli-Bazillenaufschwemmung, da ausgeschlossen werden mußte, daß gesalzene, mit apathogenen Keimen hergestellte Speise nicht auch schon schädigende Wirkung hat. Nach 15 Minuten werden die durchweichten Scheiben aus den Aufschwemmungen herausgenommen und für 2 Std. in den Brutschrank, danach 5 Std. in den Kühlschrank gestellt. Um in der „Kontrollscheibe" das Kochsalz zu entfernen, wird eine der Paratyphus- und eine der Coli-Scheiben nun in ein großes Gefäß mit Leitungswasser gelegt. Zur Gleichmäßigkeit der Versuchsbedingungen kamen die andere Paratyphus- und Coli-Scheibe für dieselbe Zeit wieder in 3proz. Kochsalzlösung. Nach einer halben Stunde erneute Entfernung aus den Lösungen und Trocknung der Brotscheiben im Brutschrank so weit, daß bei ruhigem Liegen der Scheiben Flüssigkeit kaum mehr austrat. Fütterung der Tiere, die seit 12 Std. nichts mehr gefressen hatten. Nach 3 Std. werden alle Tiere auf eine trockene Unterlage gebracht.

Nach weiteren 4 Stunden ist die mit Paratyphus B in 3proz. Kochsalz gefütterte Maus schwer krank, die 3 anderen Mäuse sind munter. Bei Schwanzblutabnahme bleibt die Kultur aller 4 Mäuse steril. Die Temperatur der kranken Maus beträgt 32°, die der Paratyphus-kochsalzfreien 35,6°, die beider Coli-Mäuse 37,6°. Temperaturen von unter 35° müssen bei der Maus als krankhaft gelten. Es war daher auch ein deutliches objektives Zeichen für die Erkrankung der Paratyphus-Kochsalz-Maus vorhanden. Weitere 5 Stunden später ist die erste Maus schwer krank, die anderen 3 sind vielleicht etwas stiller als vorher. 24 Std. später, also 36 Std. nach der Fütterung, ist die Paratyphus-Kochsalz-Maus tot, die anderen 3 Tiere sind munter, vielleicht etwas stiller, ihre Temperaturen sind 36,4, 36,4 und 36,6°, sie bleiben bei noch 8 Tage fortgesetzter Beobachtung gesund. Die Sektion der Paratyphus B-Kochsalz-Maus ergibt eine sehr vergrößerte Mesenterialdrüse und eine Enteritis des oberen Dünndarms, sonst keine krankhaften Befunde. Kulturell finden sich in Herzblut 13, freier Bauchhöhle mäßig viele, Milz 1, Leber 15 wallbildende Paratyphus B-Kolonien. In der nur auf Galle geimpften Mesenterialdrüse finden sich ebenfalls Paratyphus B-Bazillen.

Nach meinen bisherigen Erfahrungen ist die Wirkung des Kochsalzes bei dieser Anordnung ziemlich zuverlässig. Nur in einem Versuch, der auch in der Anordnung abwich, blieb die Wirkung aus. Der (Fleisch-)Brei befand sich hier in einer Liebigextraktbüchse, und die aufgegossene Kochsalzlösung, die nach der zur Durchdringung vorgesehenen Zeit wieder abgegossen wurde, war offenbar in den konsistenten Brei fast gar nicht eingedrungen.

Die Folgerungen, die aus diesen Kochsalzversuchen auf die Praxis der Fleischvergiftungen gezogen werden, bedürfen natürlich aller Vorsicht. Daß Fleischspeisen mit einem 3proz. Kochsalzgehalt vom Menschen ohne Unbehagen genossen werden, halte ich nach den Geschmacksproben, die ich mit verschiedenen Kochsalzkonzentrationen z. B. im Vergleich mit Wurstarten angestellt habe, für sicher. Die Frage ist, wie die giftigkeitserhöhende Wirkung des Kochsalzes zu erklären ist. Würde es sich um eine Virulenzsteigerung der Keime oder um eine Bildung von Toxinen in der Speise vor dem Genuß handeln, dann wäre nicht zu erkennen, warum die mit Wasser behandelte Brotscheibe die giftige Wirkung ganz vermissen ließ. Die bösartige Wirkung muß offenbar erst im Körper selbst erfolgen. Daß hier, im Körper, eine direkte und unmittelbare Toxinentwicklung oder Virulenzsteige-

rung einsetzt, halte ich nicht für wahrscheinlich. Dagegen könnte die entwicklungshemmende Wirkung des Kochsalzes, die wir ja auch in künstlichen Kulturen beobachten, von entscheidender Bedeutung sein. Ihre Folge wäre, daß die Abwehrreaktion des Körpers zunächst ganz oder teilweise ausbleibt. Dadurch gewinnen die Bakterien Zeit, sich an den Körper anzupassen, und können, wenn die hemmende Wirkung des Kochsalzes — zumal durch die Verdünnung — überwunden ist, der nunmehr, aber zu spät einsetzenden Gegenwirkung des Körpers erfolgreich trotzen und im Kampf mit dem Organismus die Oberhand gewinnen.

Im Rahmen eines letzten Versuchs, der noch einmal alle bisher erprobten giftigkeitsfördernden Umstände (Gewitter, Eis, Kochsalz) berücksichtigte, wurde die noch fehlende experimentelle Stütze dafür gesucht, daß auch Breslaubazillen bei besonderen Verhältnissen ein von der klassischen Verlaufsform abweichendes Krankheitsbild erzeugen können.

Ohne hierbei auf die in mancher Beziehung interessanten Einzelheiten des umfangreichen Versuchs einzugehen, sei beispielsweise das Verhalten einer Maus beschrieben, die einen beschleunigten Tod in der Nacht vom 3. zum 4. Tage nach der Fütterung fand. Das Tier hatte einen 2 Std. in Gewitteratmosphäre gehaltenen, darauf in Eis gepackten, dann über Nacht in der Wärme gehaltenen Brei bekommen, stammend aus den Organen eines mit Breslaubazillen infizierten „notgeschlachteten“ Meerschweinchens. Am Tage nach der Fütterung macht das Tier einen ziemlich normalen Eindruck, am 3. Tage nach der Fütterung sitzt es fast unbeweglich und erweist sich bei der Herausnahme aus dem Käfig als namentlich an der Hinterhand völlig gelähmt. Es hat dabei nicht das struppige Fell, den leeren Blick oder die geschlossenen Lider, nicht die Teilnahmlosigkeit, die gebuckelte Haltung der mit Breslaubazillen infizierten Tiere. Die Flanken sind in sehr auffälliger Weise eingezogen. In der darauf folgenden Nacht stirbt das Tier. Auf dem Rücken liegend, die Beine von sich gestreckt, die Flanken eingesunken, wird es im Käfig aufgefunden und bietet schon äußerlich ein durchaus abweichendes Bild. Die Sektion vervollkommnet dies noch: Der zerfließend weiche Dünndarm ist blauschwarz gefärbt und enthält einen grünlich-galligen Brei; dabei besteht kein eigentlicher Durchfall, vielmehr ist im Dickdarm geformter, wenn auch nicht fester Stuhl. Leber und Milz sind tiefdunkelrot und eher kleiner als normal. Eine vergrößerte Mesenterialdrüse wird nicht beobachtet (Fig. 3 u. 4). Kulturell finden sich im Herzblut 4 Breslaukolonien, freie Bauchhöhle, Milz und Leber sind steril! Wir sehen mithin ein nach Klinik, pathologischer Anatomie und Kulturbefund von dem sonstigen Bilde der Breslauinfektion völlig abweichendes Verhalten, obwohl der Tod nicht akut-toxisch, wie in der früher erwähnten innerhalb der ersten 24 Std. gestorbenen Kochsalzmaus, sondern erst nach 3—4 Tagen erfolgte, einer bei hoher Virulenz des Stammes auch zur septikämischen Verlaufsform der Breslau-In-



Fig. 3. Links: an toxischer, rechts: an septikämischer Breslau-Infektion gestorbene Maus. Haltung der Tiere beim Tode (im Käfig von oben aufgenommen).

fektion passenden Zeit. Ebenso wie dieses Tier hatten alle Mäuse dieses Versuchs, die einen Frühtod starben, einen mehr oder weniger deutlich verminderten Keimbefund in Blut und Organen, die später sterbenden wieder sämtlich die bekannte Ueberschwemmung des ganzen Körpers mit Breslaubazillen.

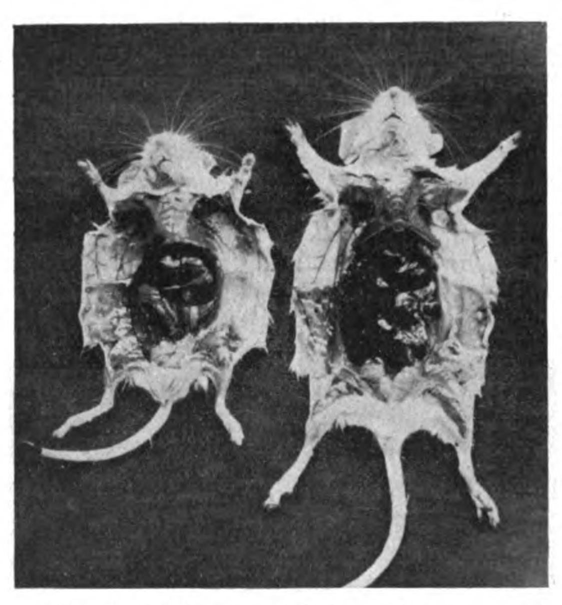


Fig. 4. Links: an toxischer, rechts: an septikämischer Breslau-Infektion gestorbene Maus.

Um die denkbaren Möglichkeiten zu vervollständigen, fehlte nur noch der Nachweis, daß Breslaubazillen auch eine chronische Erkrankung mit oder ohne folgenden Tod, so wie ich es bei Paratyphus B beschrieben habe, erzeugen können. Diesen Nachweis habe ich, da ich nur vollvirulente, frische Stämme zur Verfügung hatte, mit quantitativ abgestuften Infektionsdosen zu erbringen versucht. Der Beweis ist mir nicht geglückt; ich halte ihn aber nach den ausgezeichneten und gründlichen Versuchen M. Müllers (17) für erbracht, der mit älteren, in der Virulenz abgeschwächten Stämmen gearbeitet hat und dabei nachweisen konnte, daß solche Stämme zunächst zu der regelrechten ersten Septikämie führen, daß die Tiere, wie oben schon erwähnt, diese vollkommen überwinden und, ohne zu sterben, die Bakterien noch Tage bis Wochen im Lymphapparat beherbergen können.

Schlußbemerkungen.

Die vorstehende, für die Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Frankfurt a. M. zum 26. 9. 1925 abgeschlossene Arbeit konnte die dort mitgeteilten Ergebnisse der neueren Paratyphusforschung in einigen Punkten ergänzen. Die praktische Bedeutung der Kieler Lehre fand in Frankfurt nicht nur bei den bedingungslosen Anhängern Anerkennung, sondern wurde auch von den der Kieler Lehre in wichtigen Punkten widersprechenden Autoren zum mindesten entschiedener Beachtung empfohlen. Der Richtigkeit ihrer wissenschaftlichen Grundlage aber mußte in mancher Beziehung widersprochen werden und dies um so mehr, als auch die praktische Erfahrung schon heute viele einwandfreie Abweichungen kennen gelehrt hat.

Die Auffassung, daß die Breslauform nur eine mehr oder weniger gefestigte Variante des B-Typs der Paratyphusbazillen ist, findet eine wichtige Stütze in den Untersuchungen Uhlenhuths (16) und namentlich den serologischen Untersuchungen Seifferts (16), sowie in dem von mir geführten Nachweis, daß man die Breslaubazillen durch besondere Reize zum Rückschlag in die wallbildende Form bringen kann

(Erhöhung der Salz- und Wasserstoffionenkonzentration). Dazu gesellen sich die kasuistischen Mitteilungen über das Variieren der Wallbildung bei älteren, aber auch frischen Kulturen. Diese Variationserscheinungen machen es wahrscheinlich, daß auch im Organismus Uebergänge des einen Typs in den anderen noch ständig stattfinden. Dabei wird im natürlichen Geschehen ein verschiedener Grad von Festigkeit erreicht, der die Unterschiede der einzelnen isolierten Stämme desselben Autors und die voneinander abweichenden Erfahrungen der verschiedenen Beobachter erklärt. So erschließt diese Vorstellung auch das Verständnis für das gleichzeitige Vorkommen zweier „verschiedener" Paratyphusbazillentypen in demselben erkrankten Organismus (Uhlenhuth u. a.).

Ueber ein Mittel, künstlich diese Wandlungen und Uebergänge herbeizuführen, verfügen wir freilich noch nicht. Doch sind wir vielleicht hierbei nicht nur auf glücklichen Zufall angewiesen, wie in meinem Fall 17 der ersten Serie, sondern dürfen auch von größter Ausdauer Erfolg erhoffen.

Seiffert versuchte, durch Zusatz von d'Herelleschen Lysaten bei 59 Kulturen des B-Typs und 51 Kulturen des Breslautyps Variationen zu erzielen. Er gibt an, daß ihm dies 2mal geglückt sei. [Doch reichen in einem Falle die angegebenen Einzelheiten nicht hin, um dem Leser ein eigenes Urteil zu gestatten. Im anderen Falle (Ueberführung eines Mäusetyphusstammes in eine B-Form) bestehen Zweifel, da der Stamm fütterungspathogen blieb; auch fehlt eine Angabe über die Wallbildung. Offenbar stützt sich das Ergebnis im wesentlichen auf das serologische Verhalten. Für die hier gemeinten Umwandlungen oder Abspaltungen wäre aber vollkommener Uebergang in den anderen Typ mit allen charakteristischen Kennzeichen erwünscht.]

Die Fütterungspathogenität der einzelnen Typen wird in der von der Kieler Schule festgelegten Form von Uhlenhuth entschieden bestritten. Ich selbst konnte hierin die Kieler Lehre als Regel durchaus bestätigen, jedoch zeigen, daß es im Tierversuch unter entsprechenden Bedingungen möglich ist, sämtliche Formen des toxischen und septikämischen Fütterungsparatyphus bei beiden Arten von Keimen, der B- und Enteritisform, zu erzeugen. Demnach ist zu erwarten und durch die Erfahrung bestätigt, daß der Typus der Erkrankung beim Menschen nicht nur von dem Typus des isolierten Erregers abhängt und daß nicht nur die von der Kieler Schule gefundenen Zusammenhänge bestehen, sondern auch abweichende und gekreuzte Krankheitsbilder vorkommen (Hamburger und Rosenthal, Walser, Holm und Levy, Fraenkel und Much, Wichels, Hage (sämtlich l. c.), Uhlenhuth (16), Elkeles (16), Reichenbach (16)]. Selbst so überzeugte Anhänger der Kieler Lehre wie Graetz (16) und Knorr (16) wissen von Abweichungen zu berichten. Ersterer sagt: „Ich möchte aber der Vollständigkeit halber noch erwähnen, daß uns ganz vereinzelt auch Fälle begegnet sind, bei denen eine in Gestalt einer akuten Enteritis verlaufende Abortivinfektion mit dem Paratyphus B Schottmüller vorlag, neben anderen Fällen, bei denen der Paratyphus abdominalis mit einem akuten gastroenteritischen Stadium eingesetzt hatte." Und Knorr beschrieb Brechdurchfälle vom Typus der Breslauinfektion nach Genuß von Rehfleisch, wobei als Erreger der B-Bazillus festgestellt wurde.

Es ist daher der Kieler Schule nicht beizustimmen, wenn sie die Enteritisgruppe als selbständige Art aus der Paratyphusgruppe herausgenommen und dieser gegenübergestellt wissen will. Wohl aber kann man der praktischen Wichtigkeit der Kieler Lehre dadurch Rechnung

tragen, daß man die Haupttypen der die menschliche Paratyphuserkrankung hervorrufenden Keimarten bezeichnet als: Bac. paratyphi B (Schottmüller), B. paratyphosus enteritidis Breslau (Kaensche) und B. paratyphosus enteritidis Gärtner. Demnach bliebe es auch für die Krankheiten selbst bei der Bezeichnung Paratyphus abdominalis und Gastroenteritis paratyphosa. Soweit reine, charakteristische Krankheitsbilder vorliegen, wäre im ärztlichen Sprachgebrauch gegen eine Bezeichnung: Paratyphus, Breslau-Enteritis und Gärtner-Enteritis meines Erachtens nichts einzuwenden. Gerade aber weil der isolierte Typus keine zuverlässige Voraussage über die klinische Verlaufsform gestattet, hat der Bakteriologe die Pflicht, seine Keimdiagnose in einer der Klinik und der naturwissenschaftlichen Systematik gerecht werdenden Fassung zu stellen.

Quellenangabe.

1) Kathe, Klin. Wochenschr. 1924. S. 1835. — 2) Bis 1921 siehe bei W. Gärtner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1922. S. 525, und Wichels Klin. Wochenschr. 1924. S. 401; Bitter, L., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 435; Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1923. S. 257; Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 226; Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. 1923. S. 347.; und Holz, Arch. f. wiss. Tierheilk. Bd. 50. 1925. S. 119. — Müller, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 147. — 3) Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 125. 1918. S. 415. — 4) Ztschr. f. Hyg. Bd. 90. 1920. S. 388. — 5) Diss. Zürich, 1908: zit. nach Gärtner, l. c. — 6) Ztschr. f. Hyg. Bd. 96. 1922. S. 288. — 7) Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 87. 1906. S. 601. — 8) Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 30. S. 1010; 1925. S. 228. — 9) ibid. 1925. S. 226. — 10) Klin. Wochenschr. 1924. S. 400. — 11) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 460. — 12) Ebenda. Bd. 94. 1925. S. 83. — 13) Ebenda. Bd. 88. 1922. S. 438—440. — 14) Das autistisch-undisziplinierte Denken in der Medizin und seine Ueberwindung. 2. Aufl. Berlin (Jul. Springer) 1921. S. 179. — 15) Dtsch. med. Wochenschr. 1925. S. 227. — 16) Bericht über d. Tagung d. dtsch. Vereinig. f. Mikrobiologie v. 26.—28. 9. 1925. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1926.) — 17) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. S. 335. — 18) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897. p. 829. — 19) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. S. 406. — 20) Ztschr. f. Hyg. Bd. 104. 1925. S. 252.

Zur Biochemie der Meningokokken[1]).

Von Dr. **Melchiorre Declich,**

1. Assistent am Hygienischen Institut der Kgl. Universität in Florenz.

Einleitung: Grundsätzliche Erwägungen. Auf dem Gebiete der Coccaceen hat sich die Bakteriologie der Erforschung der Abarten eines Grundstammes mit wachsendem Interesse, unter Berücksichtigung der modernsten mikrobiologisch-immunitären Errungenschaften, namentlich der bei der Typhus-Coli-Gruppe gewonnenen Kenntnisse, zugewandt. Vom phänogenetischen Standpunkt aus bietet

1) Diese Arbeit wurde im Hygienischen Institut der Kgl. Universität Parma, zunächst unter Leitung von Prof. G. Gardenghi, dann unter dessen Nachfolger im Lehramt Prof. Gaugiorgi ausgeführt.

diese Bakteriaceenfamilie vielleicht das ausgedehnteste, wenn nicht das klarste und eindeutigste Beispiel der durch Vererbung, unter dem Einfluß besonderer Wachstums- und Existenzbedingungen des Grundstammes, erworbener neuer Eigenschaften.

Die Wandlungsfaktoren haben dieser Gruppe nicht nur in Form von biologischen Eigenschaften ihren Stempel aufgedrückt, sondern prägen sich auch in einer Eigenart der von ihnen hervorgerufenen Infektionsform aus.

Gleiches können wir gewiß noch nicht von anderen Kokkenarten aussagen. Es ist uns aber wenigstens auch hier gelungen, wenn auch nur in rudimentärer Art und Weise, Abarten des Stammes festzustellen. Wir sprechen nun nicht mehr vom Pneumokokkus, sondern von den Pneumokokken, und diesen Fortschritt verdanken wir der Serodiagnostik. Zu einer solchen feinen Unterscheidung sind wir erst vor wenigen Jahren gelangt, denn die Biochemie dieser Stämme hatte uns nichts besonderes in der Abwicklung ihrer Stoffwechselprozesse auf unseren Nährböden enthüllt. Und doch bestand die berechtigte Vermutung, daß Unterschiede bestehen müssen, wie sie durch gewisse pathologisch-anatomische Veränderungen (ödematogene Formen, Fälle mit verschiedenartigem Milztumor), auf die namentlich die italienische Schule (Foà, Rattone) aufmerksam gemacht hatte, in Erscheinung getreten waren. Andererseits ließ man in Anbetracht der Tatsache, daß man Pneumokokken lange Zeit hindurch im Exsikkator über Schwefelsäure unverändert aufbewahren kann, die biochemische Einstellung des Problems fallen. Die Differenzierungsfrage dagegen hatte sich aus den Immunitätsbegriffen, wie ich dies an anderer Stelle ausgeführt habe, ergeben, ohne daß man zu biochemischen Reaktionen Zuflucht nehmen mußte, um eine Wechselbeziehung zwischen dem künstlichen Nährsubstrat und Keim in der Form von Farbenumschlagsreaktionen, Oxydations- und Reduktionsprozessen festzustellen. So in dem schon erwähnten Beispiel der Typhus-Coli-Gruppe oder auch derjenigen der Meningokokken, welche den Gegenstand meiner vorliegenden Abhandlung bilden.

Diese beiden Pole, auf denen die bakteriologische Gruppenerforschung beruht: den biochemischen und den biologischen Standpunkt, wollte ich in ihrer Anwendung auf verschiedene Familien von Mikroorganismen vergleichend hervorheben. Die Entwicklung der Immunitätswissenschaften vollzog sich, als bereits die Wachstumsformen, die durch Zucht entstehenden Abarten der Keime bekannt waren; sie war die unmittelbare Folge dieser Erkenntnis. Je nach den Versuchserfordernissen stellte man sich eben bald auf den einen, bald auf den anderen Exponenten des bakteriellen Geschehens ein.

Vielleicht für kein anderes Kleinlebewesen wie für den Meningokokkus bestand man mit solcher Beharrlichkeit auf der Ergründung der Prinzipien, die ich in meiner kurzen Einführung dargelegt habe. In den allerletzten Jahren hatte sich die Immunitätsforschung, neben den Pneumokokken, sehr intensiv mit dem Studium des Meningokokkus (Marchiafava-Weichselbaumschen Kokkus), befaßt. Dies war auch ursprünglich meine Absicht, als ich mir die Erforschung der Meningokokkendifferenzierung als Arbeitsziel setzte. Ich wollte zu diesem Zweck, d. h. zur Feststellung des Typus, Sera bereiten, Stämme auszüchten, eine einheitlichere oder besser noch, einzige Benennung als Norm anstelle der verschiedenen Benennungen schaffen, die in der

Literatur für die Einteilung der Meningokokken geläufig sind und verwirrend wirken.

Im Hinblick aber auf die Schwierigkeiten, die Stämme meiner Sammlung am Leben zu erhalten, stand ich von meinem ursprünglichen Vorhaben ab, denn es erschien mir der Mühe wert, den Versuch zu machen, die Gründe für die außerordentliche Labilität des Meningokokkus zu erforschen, welcher von einer Ueberimpfung zur anderen, unter den denkbar besten Milieu- und Züchtungsbedingungen, mich oft in ganz unerwarteter Weise im Stich ließ.

Bei dieser andauernden Unsicherheit in der experimentellen Arbeit, dem mangelnden Gleichgewicht der Lebensfunktionen, habe ich mir die Frage gestellt, ob es nicht ratsamer wäre, zunächst zu untersuchen, ob nicht ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Nährboden und dem Keim bestehe und, wenn irgend möglich, die Urgründe dieser Labilität aufzudecken. Dies konnte nur mittels einer Nachprüfung und etwaiger Abänderung aller der für den Meningokokkus eigenen Nährböden und ihrer Bestandteile geschehen oder durch Bereitung eines auf eigene Erfahrung gestützten neuen Substrates, welches für die Lebenserhaltung dieses Keimes besser geeignet wäre. Aus den durch Monate hindurch fortgesetzten Beobachtungen und der unter Benutzung der hauptsächlich verwendeten Nährböden gesammelten Erfahrungen sowie aus der Kenntnis der chemischen und physikalisch-chemischen Faktoren, die eventuell bei der Meningokokkenevolution mitspielen, habe ich einige interessante Aufschlüsse über das biochemische Verhalten und namentlich über den fördernden Einfluß der Vitamine auf die Erhaltung der Vitalität dieses Kokkus erhalten.

Da die Versuchsanordnung einen Vergleich der besten Nährböden und namentlich der neuesten, noch nicht allgemein bekannten, ohnehin erheischte, benützte ich sie natürlich zugleich teils zur Isolierung, teils zur Feststellung des Keimes mit Hilfe seines Gärvermögens gegenüber den verschiedenen Zuckerarten.

Gelegentlich der biochemischen Untersuchungen über den Erreger der Zerebrospinalmeningitis war dies die erste Methode zur eindeutigen Feststellung dieses spezifischen Kokkus gewesen, eine Methode, die vor allem für die Gruppenbestimmung wertvolle Dienste leistet. Einen Gegensatz hierzu bildet die individuelle Methode zur biologischen Typusdifferenzierung, die ihre Ausbildung den serodiagnostischen Beobachtungen von Elser und Hunton (1908) verdankt.

Verwendete Nährböden. Eine der fundamentalen Vorbedingungen für die Meningokokkenzüchtung ist die Tatsache, daß das Wachstum nur in Gegenwart von nicht denaturierten Eiweißkörpern oder noch besser von solchen menschlicher Herkunft vonstatten geht. Dies war der Ausgangspunkt für die Bereitung der besonderen Nährböden, unter denen ich die folgenden auswählte:

1) Aszites-Agar, 2) Levinthal-Agar, 3) Glukose-Blutagar, 4) Esch-Agar, 5) Kutscher-Agar, 6) Pferdeleberagar, 7) Wassermann-Agar, 8) Koagulierter Agar nach Loeffler, 9) Tragantgummiagar nach Costa und Boyer.

Der Pferdeleberagar ist der im Institut Pasteur im Laboratorium von Dujarric de la Rivière benutzte Nährboden. Die von mir befolgte Darstellungsmethode war dieselbe wie für den Leberagar nach Fasiani und Zironi, den ich früher bereits für die Isolierung des Rauschbranderregers benutzt habe. Nach erfolgtem Wachstum überdeckt man die Kultur mit einer Schicht vitaminhaltiger Gelatine.

Ich habe schon darauf hingewiesen, wie gegen jede Erwartung und ohne erkennbare Gründe die Lebenskraft der Keime erlosch oder wenigstens zu erlöschen drohte. Dies konnte nur eine Folge von zweierlei

Gründen sein: entweder war sie in der Natur des Keimes selbst begründet oder in der ungenügenden und unzweckmäßigen Zusammensetzung der Nährböden.

Es gilt nunmehr als feststehende Tatsache, daß der Meningokokkus sich unter den Kokken (ich glaube, es ist dies noch mehr der Fall als beim Gonokokkus) durch seine schwankende Individualität auszeichnet, die sogar schon von der Zerebrospinalflüssigkeit bedroht werden kann, in der er sich jedoch entwickelt und ein zuweilen überraschend ausgeprägtes Krankheitsbild hervorruft. In einigen Fällen kann man sagen, daß es schon nach mehreren Stunden, wegen des Zerfalls der Leukozyten, schwer ist, sich bei einem einfachen Ausstrich eindeutig über die Gegenwart des Keimes auszusprechen. Intrazelluläre Keime sind verschwunden, und bei der Gramprobe fällt es sogar einem geübten und erfahrenen Auge nicht immer leicht, Leukozytengranulationen von etwaigen Diplokokken zu unterscheiden, namentlich wenn sie gering an Zahl sind (wie es bei der hochgelegenen oder blockierten Meningitis der Fall ist) oder bei schon eingetretenem Verfall. Mitunter kann man sie mit anderen Kokken verwechseln — wie ich gelegentlich der Auszüchtung des Keimes in einigen von mir beobachteten Fällen ausführen werde — wenn man die bakterioskopische Prüfung nur mit Methylenblau vornimmt. Mit anderen Worten: die Erfahrung hat mich gelehrt, daß für den Meningokokkus dasselbe gilt, was für den Nachweis der Amöben in den Faeces Grundsatz ist: die mikroskopische Untersuchung der Zerebrospinalflüssigkeit muß nämlich unverzüglich nach der Lumbalpunktion ausgeführt werden, wenn erstere, um uns an den Vergleich zu halten, noch warm ist.

Zur Keimbestimmung bleibt uns noch das Kulturverfahren zur Verfügung, und dieses hat nie versagt, auch wenn 24 Stunden nach der Lumbalpunktion bereits vergangen waren, unter Benutzung von Aszitesagar oder Glukose-Blutagar als Nährboden. Ich konnte auch beobachten, daß in den ersten Ueberimpfungen der Meningokokkus mit einer Regelmäßigkeit wächst, welche ihn in dieser Beziehung vom Gonokokkus unterscheidet. Während dieser sich im Anfang nur schwer, selbst an die günstigsten, Nährsubstrate anpaßt, aber dann kräftig und normal gedeiht, so gilt für den Erreger der Zerebrospinalmeningitis im allgemeinen das umgekehrte.

Diese auffallende und spezifische Labilität des Meningokokkus, welche dazu benutzt wird, ihn von den sogenannten Pseudo-Meningokokken zu unterscheiden, kann an sich nicht beeinflußt werden. Sie liegt in seiner parasitisch-saprophytischen Natur selbst begründet, an welche auch der launenhafte und ungleichmäßige Verlauf der durch ihn erregten Epidemien geknüpft ist. Dies ist auch der Grund, weshalb ein einfacher Nasenrachenkatarrh ein förderndes Moment für die Steigerung der Virulenz und zugleich für die Verbreitung der Seuche, wie auch von Bedeutung für die Kokkenträger werden kann, wie während des europäischen Krieges eine tausendfältige Erfahrung gelehrt hat und auch in einer Arbeit von Merelli festgestellt worden ist. Jedoch könnte es möglich erscheinen, indirekt, oder genauer gesagt, mit Hilfe von biochemischen Reaktionen zwischen Keim und Nährsubstrat einen solchen Zustand konstitutioneller Gleichgewichtslosigkeit des Keimes zu korrigieren. Von dieser Annahme ausgehend, und angesichts des unberechenbaren Abbruchs in seiner Entwicklung habe ich versucht, die klassischen, für die Züchtung oder für die Erhaltung des Erregers benutzten Nährböden entsprechend abzuändern.

Untersuchung und Modifizierung der Nährböden: Der Weg, den ich zu diesem Zweck einschlug, war einerseits auf das Studium der Bestandteile der Nährböden eingestellt, andererseits auf die Möglichkeit, sie so abzuändern, wie es sich aus der Untersuchung als zweckmäßig ergab.

Obgleich zahlreiche synthetische Versuche in der Literatur vorliegen, d. h. solche, welche die Anzahl der vorhandenen Nährböden vergrößern wollten, um die Schwierigkeiten der Meningokokkenzüchtung zu beheben, so haben sich wenig Arbeiten damit befaßt, die Zusammensetzung des Nährsubstrates zu erweitern und eine unter eingehender Prüfung der einzelnen Nährelemente dem Erreger besser zusagende Norm zu finden. Es waren hauptsächlich die englischen Forscher, welche an dieses Problem mit den modernsten analytischen Methoden herangingen und zu diesem Zweck einerseits die Beziehung zwischen Virulenz und Wachstum, andererseits die die Lebenskraft fördernden Stoffe genau untersuchten (Murray, Murray und Ayrton„ Lloyd, Lloyd und Cole). Lloyd (1916) studierte die chemischen Faktoren, welche bei der Meningokokkusentwicklung eine Rolle spielen. Murray und Ayrton (1924) (an der Universität Cambridge) versuchten, die Labilität des Keimes durch Zusatz eines aus den Ueberresten von gekochtem Fleisch gewonnenen Produktes der tryptischen Verdauung zu einem wässerigen Auszug aus Ochsenherz einzuschränken.

Bei uns in Italien haben Caldarola (1917) und Segale die Schwierigkeit der Meningokokkenkonservierung behandelt und namentlich das unberechenbare biochemische Verhalten des Erregers besonders betont (1921), während Veratti, Pontano und Trenti, De Toni die diagnostisch-klinische Seite des Problems berücksichtigt haben.

Ich begann meine Untersuchungen damit, die einzelnen Elemente, aus welchen ein Nährboden besteht, der Reihe nach zu prüfen und sie mannigfaltigen Anordnungen und Abänderungen in der Zusammensetzung zu unterwerfen.

Unter den Nährsubstraten ist die Fleischbrühe dasjenige, welches durch seine biochemische Struktur am schwersten zu erfassen ist. Gerade dieser verdanken wir ja den Umstand, daß es fast unmöglich ist, zwei gleiche Agarmengen zu bereiten, oder wie die Engländer sich ausdrücken, zwei „batches“ von Agar. Dieser ungleichmäßige Ausfall ergibt sich auch aus der Tatsache, daß, während der Meningokokkus auf einem Agarprodukt vorzüglich gedieh, auf einem neuen, unter gleichen Zubereitungsbedingungen erhaltenen Hemmung und sogar Stillstand in der Entwicklung beobachtet werden konnte. Unzählige Male war dies die Ursache der Fehlüberimpfungen, welche mich die Erfahrung lehrte, durch irgend einen technischen Kunstgriff zu überwinden, entweder durch Verkürzung der Zwischenpausen zwischen den Erneuerungen des Nährbodens oder durch Veränderung des Nährsubstrates, oder endlich durch Zusatz irgendeines Katalysators in Form einer Gelatine, die mit Bierhefevitaminen angereichert war.

Es ergab sich folglich die Notwendigkeit, das Unberechenbare in dem Gebilde „Fleisch“, welches vom Standpunkt der Nahrung die Summe der einzelnen wachstumsfördernden Elemente darstellt, auszuschalten.

Murray und Ayrton versuchten, durch Zusatz eines aus Gerinnseln von gemahlenem und gekochtem Fleisch bestehenden Verdauungsproduktes, das mit Salzsäure und Pankreasextrakt erhalten worden war, diesem Faktor einen beständigen Charakter zu verleihen und erweiterten und veränderten auf diese Weise die Grundlagen des „Trypagar“ nach Gordon, Hine und Flack (1916).

Ich verwendete dagegen den Zusatz von Aminosäuren und anorganischen Salzen zum wässerigen Agar-Agarinfus, in der Absicht, einen neuen Nährbodentypus zu den schon bestehenden hinzuzufügen.

Auf diese Weise könnte man möglicherweise die Konzentration der Aminosäuren unter ganz bestimmten Versuchsbedingungen kontrollieren und dem Erreger die Leistung des Protoplasmaaufbaues erleichtern oder sie sogar ganz durch Lieferung der nötigen Stickstoffquellen in konstanten Dosen abnehmen. Um diesen Zweck zu erreichen, mußte ich natürlich die verschiedenen Aminosäuren, welche nach den mikrobiologischen Anschauuungen für den bakteriellen Organismus assimilierbar sind, der Reihe nach durchprüfen.

Wie Carra in einer Arbeit mitteilt, die sich mit der Ausnutzung der Aminosäuren als ausnutzbare Stickstoffsubstanz befaßt, haben diese Untersuchungen in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht. Aus der diesbezüglichen Literatur geht hervor, daß die am leichtesten spaltbaren Aminosäuren die folgenden sind: Alanin, Asparagin, Tyrosin, Leuzin, Glykokoll und das Tryptophan, natürlich mit bezug auf das biologische Verhalten des Keimes, der als lebender, ab- und aufbauender Organismus benutzt wird. Zu meinen Versuchen habe ich die Erzeugnisse der Firma Kahlbaum benutzt, und zwar die folgenden: Alanin, Tyrosin, Leuzin, Glykokoll und Asparagin. Leider war es mir nicht möglich, in den Besitz von Tryptophan zu gelangen, welches nach Kitasato, Levandowsky und Carra diejenige Aminosäure ist, auf deren Benzopyrolkern die Bakterien am stärksten reagieren.

In einer ersten Reihe von Versuchen habe ich die genannten Aminosäuren in Dosen von 0,5—1 Proz. — auf Grund der Beobachtungen von Nikolai — zum nur mit destilliertem Wasser bereiteten Agarinfus, dem Aszitesflüssigkeit in dem bekannten Verhältnis zugesetzt war, hinzugefügt. Zur Neutralisierung der durch die etwaige Gegenwart von Zucker vorhandenen Säuren wurde 2/00 doppeltkalisaures Phosphat verwendet. Zur Vereinfachung der Uebersicht über die mit drei verschiedenen Stämmen während einer zehnfachen, in Zwischenräumen von je 4 Tagen ausgeführten Ueberimpfung, erhaltenen Resultate gebe ich folgende Tabelle:

Meningokokkus	Gewöhnl. Aszites-Ag.	Inf. v. Asz.-Glykokoll-Agar	Alanin-Asz.-Ag.-Infus	Leuzin-Asz. Ag.-Inf.	Tyrosin-Asz.-Ag -Inf.	Asparagin-Asz.-Ag.-Inf.
Me 9	Wächst mit bläulich-grauem Belag	Bildet getrennte Kolonien	Wächst	Wächst mit dichtem Belag	Wächst mit üppigem Belag	Wächst nicht mehr nach der 1. Ueberimpfung
Me 3	dgl.	wächst nicht	wächst	normales Wachstum	wächst nicht nach der 5. Ueberimpf.	wächst nicht nach der 3. Ueberimpf.
Me 775	wächst in Kolonienform u. mit Belag	Wächst in Kolonienform	Kolonienbildung	wächst gut	wächst normal	bildet getrennte Kolonien

Die mit einem Agar-Aszitesinfus, dem ich die 5 Aminosäuren in verschiedenen prozentualen Mengen, wie ich unten näher ausführen werde, zugesetzt hatte, erhaltenen Resultate waren die folgenden:

	Agar-Aszites-Infus + 5 Aminosäuren
Me 9 Me 3 Me 775	Entwicklung wie auf dem gewöhnlichen Aszites-Agar.

Bei ähnlichen mit Agar-Aszitesinfus ausgeführten Versuchen hatte ich nur mit Tyrosin Wachstum während einiger Generationen erhalten.

Die oben mitgeteilten Versuche haben, obwohl sie wegen der Gegenwart von Aszitesflüssigkeit nicht beweiskräftig sind, gezeigt, daß es möglich war, mit der einen oder der anderen Aminosäure, namentlich mit Leuzin, eine kräftigere Meningokokkenentwicklung als unter gewöhnlichen Umständen zu erhalten. Für das Verhältnis, in dem ich die verschiedenen Aminosäuren zum Aszites-Agarinfus hinzufügte, war die von ihnen ausgeübte Einzelwirkung maßgebend, und zwar war es das folgende: Asparagin 0,05 Proz., Alanin 0,1 Proz., Glycocoll 0,1 Proz., Tyrosin 0,1 Proz., Leuzin 0,5 Proz. unter Zusatz von 2/00 doppeltkalisaurem Phosphat.

Unter dem Einfluß dieser Aminosäurengruppe, welche vom rein theoretischen Standpunkt eine reiche Stickstoffquelle darstellten, hätte der Stoffwechsel des Erregers rascher und namentlich regelmäßiger ablaufen sollen. In der Tat war auch manchmal üppiges Wachstum festzustellen, das mich aber nicht zu der Behauptung berechtigt, daß es auffallender war als bei Aszites-Agar allein und einen stärkeren Einfluß auf die Meningokokkuslabilität ausgeübt hätte. Es wird also durch diese Art der Nährbodendarstellung die Anschauung, daß die Aminosäuren in der von mir angewandten Form als Aufbaufaktoren für die Ernährung ausgenutzt werden, wenigstens so weit es sich um Meningokokken handelt, von der Wirklichkeit nicht gestützt.

1) Aetiogenetische Momente für ein üppiges Wachstum. Bekanntlich ist das Wachstum des Meningokokkus zuerst in Beziehung zur Gegenwart von nativen Eiweißkörpern gesetzt worden, welche ihren praktischen Ausdruck in der Verwendung der leicht in größeren Mengen zur Verfügung stehenden eiweißhaltigen Aszitesflüssigkeit findet. Und doch schwankt diese wegen ihrer Herkunft leicht in ihrer Zusammensetzung, namentlich in bezug auf ihren Proteingehalt. Außerdem kann sie auch Gallensekret enthalten, welches selbst in ganz kleinen Mengen, angesichts der äußerst großen Empfindlichkeit des Meningokokkus, ein wachstumshemmender Faktor sein kann.

Die von mir in diesem Sinne gemachte Erfahrung bestätigte mir die Richtigkeit einer solchen Annahme, obgleich die von mir verwendete Aszitesflüssigkeit nur Spuren Galle enthielt, die ich bei der Suche nach den Ursachen des ausgebliebenen Ansetzens des Keimes entdeckte.

Und gerade dieser zufällige Befund gab mir Gelegenheit, diejenige Erscheinung, die Meningokokken und Pneumokokken gemeinsam haben, nämlich die lytische Einwirkung der Galle auf ihr Protoplasma, zu beobachten.

Versuch. Es wurden 5 Platinösen des Keimes Nr. 432 in 10 ccm gallenhaltiger Aszitesflüssigkeit ausgesät. Das Ganze wurde in den Brutschrank bei 37° C gebracht, um die Lyse zu beschleunigen. Schon nach 56 Stunden bemerkte ich ein Aufhellen der Flüssigkeit, welche am folgenden Morgen nicht die geringste Spur von Bodensatz aufwies. Mikroskopisch war bei der Prüfung im hängenden Tropfen kein einziger intakter Kokkus sichtbar, sondern nur einige seltene, im Innern ausgehöhlte Ringformen, welche an den Rest der Protoplasmamembran erinnerten. Anders war dagegen das bakterioskopische Bild bei einer in denselben Verhältnissen mit gallenfreier Aszitesflüssigkeit ausgeführten Aussaat. Anfangs trat in der Trübung keine Veränderung ein; am folgenden Morgen konnte man beobachten, daß die darüberstehende Flüssigkeit klar war, während der Keim sich in Form eines kleinen Meniskus, wie bei einer positiven Agglutination am Boden der Röhre gesammelt hatte.

Im Sichtfeld des hängenden Tropfens waren neben noch vollständig erhaltenen und anderen in der Teilung begriffenen Formen überwiegend Kokken mit Vakuolen und halbmondförmig gespaltene Formen wahrnehmbar, die sich nur mangelhaft färben ließen. Es war die Wirkung einer echten Degeneration mit Zerstörung des Bazillen-

leibes eingetreten, die in diesen Fällen durch das autolytische Vermögen des Meningokokkus hervorgerufen worden war. Nach Ansicht Flexners beruht diese auf der Gegenwart eines intrazellulären Ferments, welches im freien Zustande wie ein auflösendes Gift aut die anderen Kokken wirkt, ihr Wachstum hemmt und auf diese Weise ihre eigentümliche Labilität hervorruft.

Aus den 2 Versuchen kann man schließen, daß die Gallenflüssigkeit die autolytische Eigentümlichkeit des Meningokokkus nur verstärkt hat.

Bei unserem heutigen Stand der Kenntnisse über das d'Herellesche Phänomen erschien es aber nicht ausgeschlossen, daß wir es hier mit der Erscheinung zu tun haben, die der französische Biologe als „Bakteriophagismus" bezeichnet.

Versuch: Ich habe in der Tat bei reichlicherer Aussaat eines lebensfähigen Keimes auf Schrägagar, auf den ich in einem ersten Versuch eine Oese von toten aufgelösten Kokken aufgetragen hatte, kein Wachstum beobachtet; in den darauf folgenden Versuchen war es recht spärlich und wies einzelne oder gruppenförmige Kolonien auf an den Stellen, wo die autolytische Wirkung sich weniger fühlbar gemacht hatte. Außerdem nahm die Kultur das charakteristische glasige Aussehen an, welches ich von ähnlichen Beobachtungen auf dem Gebiete des Coli und des autolytischen Bazillus par excellence, des Pyocyaneus, her kannte. Mit diesen Feststellungen bestätigte ich die in vitro mit Kochsalzlösung ausgeführten Versuche Flexners.

Um auf den Gallengehalt der Aszitesflüssigkeit und die Möglichkeit der hierdurch bedingten Wachstumshemmung des Meningokokkus zurückzukommen, muß ich noch hervorheben, daß technische Laboratoriumsoperationen zu denselben paradoxen Ergebnissen führen können. So wird durch die Filtration der Proteingehalt in der Aszitesflüssigkeit eine schwankende Größe, da durch Verstopfung der Poren der Berkefeld-Kerzen N und V, teils mit Mucin, teils mit den kolloidal wenig dispersen Eiweißkörpern, das Protein allmählich immer mehr zurückgehalten wird, so daß die letzten Reagenzgläser mit den gewöhnlichen Reaktionen fast keine Anwesenheit von Eiweißkörpern mehr aufweisen.

Um dieser Gefahr vorzubeugen, habe ich die sterile Entnahme der Aszitesflüssigkeit zur Regel gemacht und Chloroform (10 ccm auf 1 l Aszites) zugesetzt, was nebenbei den Vorteil hat, den Schleim und die Proteine, die sich in einer geringeren Dispersionsphase befinden, zur Fällung zu bringen. Auch werden hierdurch etwa eingedrungene Keime durch Autolyse vernichtet. Von der Tyndallisierung bei 56° rate ich ab, weil es die Trübung durch die Koagulation der oben genannten Stoffe erhöht, die dann sehr viel schwerer zu Boden sinken.

2) Zusatz von Sera. Ich hatte auch Gelegenheit, verschiedene Arten tierisches Serum, sowohl in reinem wie in hämolysiertem Zustande zu untersuchen, ebenso nach Legroux mit Formalin versetztes Serum (auf 500 ccm Pferdeserum 1 ccm Formalin, das durch 1 ccm Ammoniak neutralisiert wurde). Ich bediente mich auch des Auszuges aus roten Blutkörperchen nach Agulhon und Legroux (defibrinierte, in Kochsalzlösung suspendierte Blutkörperchen, die auf 80° erwärmt und durch Papierfilter filtriert werden).

Die erhaltenen Resultate waren den mit Aszites gewonnenen nicht identisch: anfangs konnte ich zwar gutes Wachstum beobachten, aber nicht mehr in den folgenden Ueberimpfungen, in denen ich nicht wenig Unglücksfälle zu beklagen hatte.

3) Feuchtigkeitsgehalt. Ich habe die Aszitesflüssigkeit erst einem 3proz. Agar hinzugefügt, um die Wirkung der Verdünnung festzustellen. Dies hatte jedoch eine größere Festigkeit des Nährbodens, mithin auch größere Trockenheit zur Folge. Ich sah ein, daß dies kein wachstumsfördernder Faktor war. Bei gelegentlicher Verwendung eines viel weicheren Agars konnte ich beobachten, daß das Wachstum viel besser vor sich ging und um so beständiger wurde, je feuchter die Oberfläche des Nährbodens war. Diese Beobachtung brachte mich auf den Gedanken, die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß die Entwick-

lungsverschiedenheiten des Meningokokkus in besonderer Weise mit dem Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens in Beziehung ständen, und zwar dadurch, daß die Nahrungszufuhr zugunsten des Wirts durch die feuchtere Konsistenz erleichtert und befördert würde. Durch Verminderung der inneren Viskosität dank der Zunahme an freiem und Quellungswasser wird die Verteilung der Kolloidalteilchen gesteigert und daher ihre Aufnahme seitens des Keimes leichter gestaltet. So habe ich versucht, mir die Bedeutung dieses physikalisch-chemischen Faktors zu erklären, welcher hinsichtlich des Meningokokkus praktisch in der Verwendung der halbfesten Nährböden zur Geltung kommt. Nachdem ich auf Grund dieser Feststellungen dazu überging, einen fast weichen Agar zu benutzen, bei dem, wenn man nicht besonders darauf achtet, die Platinöse leicht bis ins Innere eindringt, habe ich in der Tat fast keine Fehlresultate unter meinen 25 Meningokokkenstämmen mehr zu verzeichnen, von denen ich 5 im Laufe des Jahres isoliert habe. Und wenn auch manchmal die Kulturen dem Absterben nahe waren, so konnte ich sie doch noch am Leben erhalten.

4) W a s s e r u n d a n o r g a n i s c h e S a l z e. Ein anderer Bestandteil, dem ich meine Aufmerksamkeit schenkte, war das für die Bereitung der Bouillon benutzte Wasser, das meistens gewöhnliches Leitungswasser war. Gelegentlich verwendete ich auch destilliertes Wasser, und in diesem Falle schien es mir, als ob der Belag auf diesen Nährböden feuchter und weniger klebrig ausfiel.

Angesichts der Tatsache, daß der Pestbazillus auf eine Steigerung des Kochsalzgehaltes mit den bekannten Formvariationen und mit einem auffallend klebrigen Belag reagiert, dachte ich, da es sich in unserem Falle um einen so empfindlichen Keim, wie es der Meningokokkus ist, handelt, daß eine Wechselbeziehung zwischen den zugesetzten Salzen (NaCl) und den im Leitungswasser enthaltenen Mineralsalzen bestehen könnte. Ich wurde in meiner Annahme durch die Versuche von M u r r a y und A y r t o n bestärkt, welche den Gehalt an NaCl, $CaCl_2$, KCl in ihren Nährböden variierten und daraufhin qualitative wie quantitative Veränderungen im Wachstum beobachten konnten.

Bezüglich der verschiedenen Art und Weise, in der die Meningokokken wachsen, finden wir in der Literatur verschiedene Bezeichnungen, welche fast zu einer morphologischen Differenzierung führen könnten. Man spricht von dichtem, milchigen, silberschimmernden oder glasigen Belag von Kolonien, wie sich J ö t t e n (1925) ausdrückt, oder von „sticky“ (klebrig) oder „granular growth“ (körniges Wachstum) nach der Ausdrucksweise der englischen Forscher.

Die in dieser Hinsicht von mir persönlich gemachte Erfahrung hat mich jedoch gelehrt, daß dies nicht konstante Eigenschaften sind, auf die man sich bei der Gruppeneinteilung stützen könnte. Ich hatte nämlich beobachtet, daß Stämme monatelang einen dicken, milchigen Belag bildeten, dann auf einmal das Aussehen veränderten und, unter Bildung von abgetrennten Kolonien, schillernd glasig wurden. Und dies war für mich ein Kennzeichen der beginnenden Hinfälligkeit des Keimes. Andererseits konnte ich auch den umgekehrten Fall konstatieren. Seit Monaten überimpfe ich dagegen mit gutem Erfolg einen Keim aus dem Rockefeller Institute in New-York, welcher ein ausgesprochenes körniges Wachstum aufweist, das sich andauernd konstant verhält. Dasselbe Merkmal besitzt ein mir vom Serotherapeutischen Institut in

Kopenhagen gesandter Stamm (Sp. 38), und auch der Typus IV Gordon hat eine deutliche konstante Tendenz zur Kolonienbildung.

5) Alkalibestimmung. Ein anderer Faktor, den ich verbessern wollte, war der Alkaligehalt in den verwendeten Nährböden. Ursprünglich benutzte ich, wie es in unserem Laboratorium üblich ist, zur Alkalititrierung der Nährböden das gewöhnliche Lackmuspapier und das Phenophthalein. Gleich hier stieß ich auf Unregelmäßigkeiten in der Technik, denn bekanntlich ist der Umschlagspunkt der beiden Indikatoren nicht identisch, und ich glaubte berechtigt zu sein, diesem Umstand etwaige Störungen im Menigokokkenwachstum zuzuschreiben.

Ich wählte deshalb die kolorimetrische Methode nach Michaelis zur Wasserstoff(pH)-Bestimmung nach Sörensen unter Verwendung des Valpoleschen Komparators.

Zuerst stellte ich den Umschlagspunkt der beiden oben genannten Indikatoren fest und fand für: a) Lackmus pH = 7, b) Phenophthalein pH = 8.

Nach Austitrierung meiner Nährböden zwischen diesen beiden Grenzwerten fand ich, daß der günstigste Punkt für die Entwicklung des Meningokokkus zwischen pH 7,2 und 7,4 lag, während er für den Gonokokkus bei 7,6 und 7,8 war.

Wie bekannt, stellt die kolorimetrische (die sog. „ionoskopische") Methode nicht das Ideal für die Titerbestimmung der Wasserstoffionenkonzentration dar, da einerseits optische Fehlerquellen möglich sind, andererseits Fehler sich einschleichen können wegen der Konzentration der verschiedenen, im Nährboden selbst vorhandenen Salze, welche auf die Nuanzen des Indikators Einfluß ausüben können, dessen Standardlösungen mit einer salzarmen Lösung (physiologische Kochsalzlösung) bestimmt werden. Ich wollte deshalb die etwaigen kleinen Unstimmigkeiten durch Verwendung der elektrometrischen Methode mit dem Potenziometer vermeiden, was mir in der Tat gelungen ist, da ich für pH den theoretisch günstigsten Wert = 7,2—7,4 erhielt.

Ich möchte noch betonen, daß ich auch die verschiedene Zusammensetzung der im Handel käuflichen trockenen Peptone berücksichtigte und aus diesem Grunde die verschiedenen Arten: Pepton Chapoteau, das Witte-Pepton und ein hiesiges Produkt der Firma Zambelli, sowie das flüssige Pepton Martin zu den Versuchen vergleichshalber heranzog. Die getrockneten Peptonprodukte haben, je nach dem Erzeuger und dem Verdauungsgrad, dem sie unterworfen worden sind, einen verschiedenen Gehalt an Eiweißabbaustoffen und können daher den bakteriellen Assimilationsvorgang beeinträchtigen. Einige bestehen fast überwiegend aus Aminosäuren und Peptonen, andere enthalten neben Pepton noch Albumosen ersten und zweiten Grades.

Auszüchtung der Meningokokken. Nach Beendigung des analytischen Teiles meiner Untersuchungen, welche die Zusammensetzung der oben genannten Nährböden und die ihr zugrunde liegenden Prinzipien nachprüfen sollten, habe ich die Richtigkeit meiner daraus gezogenen Schlüsse in bezug auf die Erhaltungsmöglichkeit meiner Stämme auf zweierlei Art auf die Probe gestellt: erstens durch die sich als notwendig ergebenen Abänderungen der künstlichen Nährböden und ihre Benutzung zum Auszüchten der Keime, zweitens durch die Herstellung eines weichen, halbfesten Nährsubstrates, welches den oben ausgeführten Betrachtungen Rechnung trug und das den Charakter eines auf lange Sicht wirkenden Katalysators haben sollte.

Der Nährboden, auf den ich mich fast dauernd in diesem Teil meiner Arbeit gestützt habe, war der von mir bereitete Aszites-Plazenta-Agar, bei dessen Bereitung ich in den folgenden Punkten von der Originalvorschriften Kutschers abwich: 1) Benutzung niedriger Temperaturen (105°) und Tyndallisation, 2) Be-

nutzung von Aqua dest., 3) Weglassung jeglichen Zusatzes zum Plazentaagar. 4) Benutzung von 0,25 Proz. Kochsalz und Ersatz der fehlenden Menge durch 0,01 Proz. $CaCl_2$. Im übrigen war das Verfahren das übliche.

Nach Einfüllung in sterile Glasröhren wurden dem auf 55° abgekühlten Plazentaagar zugesetzt: entweder gewöhnliche Aszitesflüssigkeit (1:3): Aszites-Plazentaagar, oder weiche, durch Filtrat von Bierhefe bereitete Gelatine, der Aszitesflüssigkeit zugesetzt worden war (auf 3 Teile Agar 1 Teil vitaminreiche Gelatine und 1/2 Teil Aszites).

Als Ersatznährboden habe ich Levinthal-Agar und Schottmüller-Agar (Glukose-Menschenblutagar) verwendet.

Zur biochemischen Differenzierung von Meningokokken und Pseudomeningokokken benutzte ich die gärenden Nährböden von v. Lingelsheim (1905). Die von mir verwendeten Zuckerarten waren: Saccharose, Dextrose, Lävulose, Laktose, Galaktose, Maltose, Mannit, Dulzit.

Als Indikator verwendete ich die Lackmuslösung nach Kubel und Tieman (Kahlbaum). Ich habe ferner auch zu Vergleichszwecken einige Proben mit Neutralrot-Nährboden (zuckerhaltiger Aszites-Bouillon), wie sie von Bruckner und Christeanu (1907) vorgeschlagen worden sind, ausgeführt, welche sich jedoch der klassischen Methode von Lingelsheim gegenüber als minderwertig erwiesen haben.

Die Kultur aus der Zerebrospinalflüssigkeit bei vorliegendem Verdacht von Zerebrospinalmeningitis bereitet sicherlich keinerlei Schwierigkeiten, wenn man das bereits über die Flüssigkeit Gesagte im Auge behält und die nötigen Kulturhilfsmittel zur Verfügung hat. Ich will mich deshalb hier nicht in längere Erörterungen einlassen und nur mitteilen, daß ich in dem laufenden Jahr (Parma, Mailand) 5 Stämme isoliert habe.

Ueberraschungen kann man dagegen bei der Bestimmung des Erregers erleben, und zwar, meiner Meinung nach, aus zweifachen Gründen:

1) der isolierte Keim ist morphologisch und kulturell dem Meningokokkus identisch, gibt aber nicht die spezifischen Gärungsreaktionen,

2) es können Misch- und Sekundärinfektionen vorliegen.

Dem ersten Fall begegnete ich bei der Auszüchtung aus der Zerebrospinalflüssigkeit eines Kindes (Mailand). Vom rein morphologischen und kulturellen Standpunkt bestimmte ich den isolierten Bazillus ohne weiteres als einen Meningokokkus. In Wirklichkeit vergärte er aber keinen der von mir verwendeten Zuckerarten gut, nur auf dem Rand des Belags einer Dextroseröhre war eine leichte Rötung bemerkbar. Es war ein äußerst labiler Keim, der sich nur auf vitaminreichem Aszitesagar entwickelte. Ich konnte nicht rechtzeitig die Bestimmung des Typus mit den spezifischen Sera durchführen, da er vorher einging.

In einem anderen Falle, in dem der Keim aus der Zerebrospinalflüssigkeit eines Mädchens (Krankenhaus in Parma) (Stamm V) gewonnen wurde, machte ich dieselbe Beobachtung. Auch hier waren die Gärungsproben vollständig negativ.

Daß andererseits meine Nährböden genaue Farbenumschläge gaben, bewiesen mir die Meningokokken meiner Sammlung, welche alle Dextroseagar und fast sämtlich auch Maltoseagar zur Rötung brachten. Unter diesen befand sich einer, der mir vom Institut für Infektionskrankheiten in Berlin zugesandt worden war (Stamm B), der jedoch auch die Lävulose vergärte. Dies berechtigt mich wohl, ihn für einen Diplococcus flavus zu halten, um so mehr, als sein Belag dicht, weißlich und leicht körnig war. Aus diesem Grunde überimpfte ich ihn auf eine gewöhnliche Agarplatte; bei der 2. Ueberimpfung wurde er jedoch fadenförmig und ging schließlich bei der 3. Ueberimpfung ganz zugrunde. Dies scheinen übrigens keine vereinzelten Fälle zu sein, denn der Nährboden von Lingelsheim entfachte, als er auf die Feuerprobe gestellt

wurde, einen heftigen Meinungsstreit bezüglich seines wirklichen Wertes. Klinger und Farmann fanden, daß manchmal die Vergärung der Maltose ausbliebe. In England dagegen stellten Arkwright, Buchanan, Gordon fest, daß ihre Stämme auch Lävulose und Galaktose vergärten.

Man könnte vielleicht einwenden, daß diese letzteren Forscher nicht immer wirkliche Meningokokken, sondern Pseudomeningokokken, wie den Diplococcus flavus, den Diplococcus crassus und den Micrococcus catarrhalis vor sich hatten.

Uebrigens wäre nichts besonderes dabei, denn diese Pseudomeningokokken sind nicht nur Saprophyten im Nasenrachenkanal, sondern unterhalten außerdem einen Meningitisprozeß wie ein echter Meningokokkus. Ein Beispiel hierfür beobachtete ich bei der Isolierung aus einer Zerebrospinalflüssigkeit. Die Merkmale des von mir isolierten Erregers entsprachen denjenigen eines Micrococcus catarrhalis, der von einem Fall von chronischer Rhinopharingitis stammte. Dopter behauptet in seinem Buch „L'Infection meningococcique", daß die Bedeutung dieser Pseudomeningokokken aber gerade darin besteht, daß sie Krankheiten hervorrufen können, die genau wie diejenigen, von den Meningokokken erregten verlaufen, wie kürzlich bei uns in Italien von de Toni festgestellt worden ist.

Ich gehe nun zu den Fällen von Misch- und Sekundärinfektionen über.

Zerebrospinalflüssigkeit, die mir einige Stunden nach der Entnahme von der Infektionsabteilung des Krankenhauses zu Parma übergeben wurde, ergab auf der Aszites-Agarplatte 2 Arten von Kolonien: die eine wohlbekannte der Meningokokken (grau, durchsichtig, feucht), die andere weißer, undurchsichtig, etwas körnig. Zweifellos hatten wir hier zwei Bakterienformen vor uns. Die sterile Flüssigkeitsentnahme ließ in mir nicht das Bedenken auftauchen, es handle sich um eine gewöhnliche Verunreinigung. Andererseits zog ich auf Grund der Bestimmung des Keimes (zweifelhaftes Verhalten bei der Gramprobe, Vergärung der Dextrose, Maltose, Lävulose, Laktose) den Schluß, daß hier ein Micrococcus crassus oder Pseudomeningococcus Jäger vorlag. Wir hatten also eine Mischinfektion vor uns: den Weichselbaumschen Meningokokkus und den Jägerschen Pseudomenigokokkus. Um die Richtigkeit meines bakteriologischen Befundes zu erproben, wollte ich in diesem Falle die Glukose-Menschenblutagarplatte nach Schottmüller verwenden, bei der der Meningokokkus mit runden, undurchsichtigen, grauvioletten Kolonien wachsen soll. In der Tat bildete sich ein Unterschied zwischen den beiden Kolonien heraus: die eine wuchs in grauvioletter Tautropfenform, die andere war weiß.

Die Durchsicht der vorliegenden Literatur in dieser Hinsicht lehrte mich, daß diese Möglichkeiten, wenn auch selten, doch tatsächlich vorkommen. So konnte ich sechs andere ähnliche Fälle, in denen neben den Meningokokken der Diplococcus crassus festgestellt worden ist, verzeichnen, und zwar von den folgenden Autoren: Leschczyner, Weyl, Kob, v. Lingelsheim, Kutscher, Gruber.

In einem anderen Fall mit der klinischen Diagnose einer Zerebrospinalmeningitis fand ich in der Flüssigkeit neben einem gramnegativen Diplokokkus, welcher bei der bakterioskopischen Prüfung die intrazellulären Merkmale des Meningokokkus aufwies, den ich aber in bezug auf Kultur- und Gärungsverhalten als einen Diplococcus flavus identifizierte, einen Pseudodiphtheriebazillus. Obgleich auch Flügge (1905) über einen ähnlichen Befund berichtet, war ich geneigt, die Gegenwart des grampositiven Stäbchens für eine, durch die Berührung mit der Haut zustande gekommene Verunreinigung der Nadel aufzufassen.

Soergel hat in ihrer Doktordissertation (1917) fast 70 Fälle feststehender Misch- und Sekundärinfektionen gesammelt, welche die bakteriologische Diagnosis der Zerebrospinalmeningitis komplizieren, und an denen der Meningokokkus und meistens einer der Pseudomeningokokken mitbeteiligt sind. An Stelle dieser letzteren wurde jedoch, neben dem Meningokokkus, der Pneumokokkus (in 12 Fällen), Streptokokken (in 11 Fällen), der Influenzabazillus (1 Fall) usw. gefunden.

Kurz, vom Standpunkt der biologischen Differenzierung des Meningokokkus aus kann ich behaupten, daß man mit dem v. Lingelsheimschen Nährboden in der Mehrheit der Fälle einen Meningokokkus von den verwandten Arten, Pseudomeningokokken, unterscheiden kann, daß es aber mit dieser Methode allein nicht gelingt, einen Schritt weiter in der Erforschung der sog. Parameningokokken, wie Dopter anfangs diejenigen Kokken nennen wollte, welche nur in bezug auf ihre Immunitätsreaktionen vom Typus des Meningokokkus verschieden sind, zu machen.

Es ergab sich mithin die Notwendigkeit, einerseits die Konstitution der Meningokokken meiner Stämme und namentlich derjenigen, welche keine scharfen Gärungsreaktionen aufwiesen, und logischerweise auf Grund dieses Kriteriums nicht in die Gruppe der Weichselbaumschen Meningokokken eingereiht werden konnten, zu kräftigen, andererseits sie in ihre biologischen Variationen zu spalten und zu diesem Zweck die serodiagnostischen Methoden heranzuziehen, die allein imstande sind, uns die allerfeinsten immunitären Unterschiede bei gleicher Protoplasmastruktur zu enthüllen. Doch diese Untersuchungen behalte ich mir vor, in einer zweiten Mitteilung zu behandeln.

Konservierung der Meningokokken. Aus dem bisher über die Beziehungen zwischen Substrat und erblicher Meningokokkenlabilität Gesagten geht hervor, daß diese letztere so beeinflußt werden kann, daß sie, wenn auch nicht vollständig bekämpft, so doch mit Hilfe der von mir verwendeten Zusätze von Lebensanreizmitteln zum gewöhnlichen Agar zweifellos in großem Umfange herabgesetzt wird. Trotz dieser künstlichen Eingriffe erlischt aber die Lebenskraft des Meningokokkus in kurzer Zeit: er wird höchstens 6—8 Tage alt.

Gerade auf die Bekämpfung dieser raschen Erschöpfung des Meningokokkus haben sich die Bestrebungen der Forscher gerichtet und die Bedingungen zu finden gesucht, welche es gestatten, ihn wenigstens auf jenen Zeitraum von 3—4 Wochen, der allgemein für die Erneuerung einer Kultur als notwendig angesehen wird, am Leben zu erhalten. Man mußte, um dieses erwünschte Ziel zu erreichen, dem Meningokokkus eine Umgebung schaffen, die, obgleich sie mit den nötigen Nährstoffen versorgt ist, den raschen Zerfall der Bakterienzellen und damit zugleich die Mobilmachung derjenigen toxischen autolytischen Faktoren, auf die ich bereits hingewiesen habe, verhindert.

Auf zwei Elemente, die diese Vorbedingungen erfüllen, kann man sich hierbei stützen:

1) die flüssigen oder halbfesten Nährböden,
2) die Anaerobiose.

Bei der Bereitung dieser Nährböden wurden die modernen Anschauungen über das Wesen der Vitamine und der Aminosäuren vollauf berücksichtigt.

Die Rolle, welche diese Substanzen im Lebenshaushalt der Meningokokken spielen, ist von Lloyd studiert worden, welcher als erster diese Frage systematisch behandelt hat (1916). Es folgten kurz darauf die Arbeiten von Gordon und

Hine und dann von Flack über den schon erwähnten Trypagar, der aus einem Auszug von Erbsenmehl und Ochsenherzinfus hergestellt wird. Shearer untersuchte dagegen die aus dem Nasensekret und der Zerebrospinalflüssigkeit stammenden, das Meningokokkenwachstum fördernden, Katalysatoren.

Eberson stellte mit einem Bierhefenauszug einen Peptonagar, dem Kaliphosphat zugesetzt wurde, dar und beobachtete damit eine Lebensverlängerung des Kokkus. Klinger fand im Gegensatz hierzu, daß der Meningokokkus durch ein Bierhefenautolysat in seiner Entwicklung nicht günstig beeinflußt wird.

Dies sind die Angaben, die ich über die das Wachstum des Zerebrospinalmeningiteserregers fördernden Faktoren in der mir zur Verfügung stehenden Literatur gefunden habe.

Unter den zur Konservierung des Meningokokkus empfohlenen flüssigen Nährböden hatte ich demjenigen von Besredka und Jupille den Vorzug gegeben.

Die Darstellung dieser Eibouillon ist durch die notwendige Klärung des Eiweißes und Eigelbes und der Vorbereitung des Martinschen Peptons etwas kompliziert.

Zu einem ersten Versuch habe ich 3 verschiedene Stämme in diese Bouillon überimpft und ihre Lebensdauer alle 10 Tage kontrolliert. Einer der Stämme (Me 9) wurde mir am 10. Tage entrissen, der zweite ist 40 Tage alt geworden(MeG), der dritte erlebte nicht einmal den 10. Tag (Me Carnevali).

Vielleicht hatte die Wasserentziehung in den wässerigen Teilen, welche eine stärkere Konzentration der Salze und der eiweißartigen Körper zur Folge hatte, einen schädlichen Einfluß auf einen so zarten Organismus, wie es der Meningokokkus ist.

Nachdem ich mich so davon überzeugt hatte, daß dieser Nährboden doch unzuverlässig ist, ging ich zu den halbfesten über, die aus geringen Mengen von $^1/_2$ Stunde lang auf 60° erhitztem Serum (menschliches und Kaninchenserum) bestehen, und mit einer Schicht von sterilem Paraffinöl überdeckt werden. Sie sind von Ungermann (1918) vorgeschlagen worden, welcher seine Stämme 14 Monate lang am Leben erhielt.

Bei der Erweiterung des Kreises von Nährböden, die ich in den hier mitgeteilten Versuchen anstrebte, stützte ich mich aber, mehr als auf die genannten Sera, vorzüglich auf 2 Elemente: die Vitamine und die Anaerobiose. Mit Rücksicht auf ihren Gehalt an Stickstoffstoffen und Vitaminen B wählte ich die Bierhefe als Konservierungsmittel, welche mir in orientierenden Versuchen deutlich ihre günstige Einwirkung auf das Meningokokkenwachstum offenbart hatte.

Einen meiner Stämme säte ich aus:

1) auf gewöhnlichen Agar, 2) auf Agar, dem im Verhältnis von 3:1 vitaminreiche Gelatine, deren Bereitung ich unten beschreiben werde, zugesetzt worden war, 3) auf Plazentaagar.

Die entsprechenden Ergebnisse waren folgende:

1) schon die 2. Ueberimpfung setzte nicht an, 2) Entwicklung bis zur 5. Ueberimpfung, 3) die Entwicklung blieb während der ganzen Versuchsdauer unverändert (über einen Monat).

Herstellung der mit Vitaminen angereicherten Gelatine.

100 g Bierhefe werden in 100 ccm Aqua dest. aufgerührt und 24 Std. der Autolyse überlassen. Dann bleibt das Material 1 Std. lang im Kochschen Topf und wird durch Papierfilter filtriert. Zum Filtrat werden 0,25 Proz. NaCl oder 0,01 Proz. $CaCl_2$ und 67proz. Gelatine hinzugefügt, so daß die Flüssigkeit eine seröse Konsistenz erhält.

Den Alkaligehalt titriert man mit pH 7,2, filtriert durch Karlinsky-Filter und füllt in Reagenzgläser ein.

Zu 3 ccm dieser Gelatine werden ungefähr 1 ccm Aszites hinzugefügt. Dann werden die Reagenzgläser mit einer Schicht sterilen Paraffinöls überdeckt.

Durch den folgenden Versuch wurde ich auf die Unerläßlichkeit dieser Schutzmaßnahme aufmerksam gemacht.

Ich säte denselben Meningokokkenstamm einmal auf dem soeben beschriebenen, mit Paraffinöl überdeckten Nährboden aus, das andere Mal auf einem solchen ohne Paraffindecke. Nach 20 Tagen erfolgte kein Wachstum mehr auf den Ausstrichen, die aus der Gelatine ohne Paraffinölschicht stammten, während im anderen Fall die Entwicklung auf Aszitesagar sogar nach 50 Tagen ungestört und ununterbrochen fortging.

Ich führte die Aussaat vor dem Zusatz des Paraffinöls mit dem Inhalt einer Platinöse des 24stündigen, aus Aszitesagar stammenden Materials aus. Die Flüssigkeit trübt sich nicht, während die Masse der Kokken sich am Boden der Reagenzgläser in Form eines Meniskus ansammelt und mit der Zeit an Umfang nicht zu wachsen scheint.

Zur Ueberimpfung bediente ich mich der Pasteurschen Pipette, mit der ich von unten her einen Tropfen des Bodensatzes entnahm und ihn auf einen Plazenta-Schrägagar ausbreitete. Das Wachstum erfolgte in Form von abgetrennten, vereinzelten Kolonien auf der Gesamtoberfläche der Agarplatte. Unter den versuchsweise auf dieser Gelatine gezüchteten Stämmen befand sich einer, der bei den Ueberimpfungen auf Aszitesagar einzugehen drohte. Es gelang mir aber, ihn durch Abimpfen aus dem Dauernährboden 60 Tage lang nach der Aussaat am Leben zu erhalten. Bei den Ueberimpfungen von einer Gelatineröhre auf die andere verfahre ich nicht auf direktem Wege, sondern bringe das entnommene Material aus der alten Röhre auf einen Plazenta-Aszites-Schrägagar und warte hier die Kolonienbildung ab. Kurz darauf säe ich den Oeseninhalt dieses Belags in die neue Röhre über.

Vorausgesetzt, daß derartige Ergebnisse verallgemeinert werden können und für jeden Meningokokkenstamm, wie nachstehend angegeben, gelten, so hätten wir in der vitaminhaltigen und mit Aszites versetzten Gelatine ein Milieu vor uns, das die genannten Bedingungen für eine beträchtlich lange Lebenserhaltung der Meningokokken erfüllt. Ich glaube nicht, mich hier im Hinblick auf die von mir ausgeführten Untersuchungen, und namentlich auf die in den letzten Monaten auf breiter Basis gemachten praktischen Erfahrungen, zu täuschen, denn es ist mir gelungen, seitdem ich andauernd mit dem von mir modifizierten Nährboden arbeite, sämtliche 13 Stämme ohne jeden unangenehmen Zwischenfall stets 4 Wochen und auch noch länger leben zu lassen. Ich erblicke in der Anaerobiose einen äußerst wichtigen Faktor für die Beständigkeit im Meningokokkenwachstum, welches andererseits durch die als Reizmittel wirkenden, hormonartigen Stoffe der Bierhefe aufrecht erhalten wird. Bezüglich der Anaerobiose brauchen wir nur an die Virulenz des Meningokokkus im Wirbelsäulenkanal bei Sauerstoffspannung zu denken, die sicherlich von derjenigen auf der Oberfläche unserer Züchtungsmittel herrschenden verschieden ist. Vielleicht befördert und beschleunigt der zu lebhafte Gaswechsel in den aerobiotischen Substraten die Sauerstoffwechselvorgänge des Meningokokkus und begünstigt somit auf diese Weise seinen raschen Verfall.

Zusammenfassung.

1) Zwischen den von mir angewandten Nährböden habe ich dem von mir vereinfachten Kutscher-Agar den Vorzug gegeben; ich hatte hingegen keine gleichmäßigen Resultate mit den synthetischen Nährböden. — 2) Bei den ätiogenetischen Faktoren eines üppigen Wachstums habe ich die Wichtigkeit nicht nur des Zusatzes von nativen Eiweißkörpern, wie z. B. von Aszites, aber vollkommen gallenfrei, sondern auch des Grades der Feuchtigkeit, sowie der Alkalinität des Nährbodens hervorgehoben. — 3) Die Isolierung des Menigokokkus aus der Zerebrospinalflüssigkeit ist gewöhnlich leicht; sie kann sich jedoch durch Mischinfektionen komplizieren, insbesondere durch Pseudomeningokokken, wie eben in dem von mir beschriebenen Fall; da kann man zur biochemischen Differenzierung die Zuckernährböden von v. Lingelsheim oder die Blutagarplatten nach Zeissler und Gassner verwenden. — 4) Zur Konservierung der Meningokokken habe ich mit Bierhefeextrakten eine weiche, mit Aszitesflüssigkeit bereicherte Gelatine vorbereitet, die auch in kleinen Mengen unter Mikroanaerobiosis (Paraffinölüberschichtung) meine Menigokokkenstämme für eine Zeitdauer, die sicherlich nicht kürzer als die gewöhnlich für die Erneuerung der Kulturen nötige ist, am Leben zu erhalten imstande ist.

Literatur.

Caldarola, Contributo allo studio dei meningococchi con speciale riguardo alla loro conservazione e virulentazione. (Annali d'Ig. 1917.) — Merelli, Osservazioni epidemiologiche sulla meningite cerebrospinale. (Ig. Moderna. 1918.) — Dopter, L'infection meningococcique. Paris (Masson). — Agulhon et Legroux, Compt. Rend. Acad. Scienc. T. 147. 1918. p. 597. — Gordon, Hine a. Flack, Brit. Med. Journ. 1916. 18. Nov. — Legroux, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 132. 1920. p. 466. — Legroux et Mesnard, Compt. Rend. Acad. Scienc. T. 170. 1920. p. 901. — Murray, Journ. of Hyg. Vol. 22. 1924. p. 175. — Funk, Die Vitamine. 1922. — Lloyd, D., Vitamines, amino acids, and other chemical factors involved in the growth of the Meningococcus. (Journ. Path. Bact. Vol. 21. 1916. p. 113.) — Declich, M., Contributo alla diagnosi differenziale dei vari tipi di pneumococchi. (Biochim. e Terap. sperim. a. 1922). — Shearer, C., Lancet. 1917. — Kutscher, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. — Esch, Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 52. — Levinthal, Zeitschr. f. Hyg. 1918. — Klimmer, Technik und Methodik der Bakteriologie und Serologie. 1923. — Murray u. Ayrton, Journ. of Hyg. Vol. 23. 1924. — Veratti, Bollett. d. Soc. med.-chir. di Pavia. 1919. — Pontano u. Trenti, Policlinico (Sez. Medica.) 1924. — Declich, M., Appunti sulle culture anaerobiche in presenza d'aria applicate al bacillo die Chauveau. (Clinica Veterin. 1920.) — Jötten, Ueber Meningokokkentypen 1925. — Gruber, Ueber die Meningokokken etc. Berlin 1918. — Carra, Modificazioni biologiche dei germi in rapporto al loro accrescimento sui terreni sintetici. (Annali d. Ig. 1925.) — Segale, Pathologica. 1921. — Kutscher, Kolle und Wassermann, Handb. der pathogenen Mikro-Organismen. Bd. 4. S. 614. — Sörgel, Ueber die Hauterscheinungen und die Mischinfektionen bei der Meningokokken-Meningitis. 1917. — Silbergleit u. Angerer, Mischinfektion bei Meningitis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1916. Nr. 1.) — v. Lingelsheim, Ibid. 1905. S. 1217. — Bruckner a. Christeanu, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 60. 1906. p. 988. — Morini, L., Riforma Med. Napoli. 1920. — Kligler, Yeast autolysate as a culture medium for bacteria. (Journ. Bact. Vol. 4. 1919.) — Ungermann, Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1918. — de Toni, G., Meningiti pseudomeningocciche e parameningococciche nei lattanti. (Rivista di clin. pediatrica. 1925.)

Corynebacterium parvum infectiosum.

Von Professor Dr. **Georg Mayer,**
Dillingen (Donau), früher München.

Mit 1 Abbildung im Text.

Eine Frau war vor 3 Jahren, 6 Wochen nach einer Geburt, mit intermittierendem Fieber erkrankt. Die damalige Diagnose Tuberkulose bestätigte sich nicht. In Zwischenräumen von Wochen und Monaten traten immer wieder Fieberanfälle auf unter steigender Konsumption des Körpers. In einem Krankenhaus wurde ein Bauchschnitt gemacht, aber nichts gefunden. Am 17. Mai 1924 wog sie 58 Pfund. Das Schillingsche Blutbild war äußerst bedrohlich und zeigte direkt auf Tod.

17. 5. 21 LZ. 12 000 **Bas.** 0,3, **My.** 3,0, **Jug.** 4,0, **Stab.** 40, **Seg.** 31, **Ly.** 15, **Mo.** 13
2. 6. 24 **LZ.** 9000, **My.** 2,0, **Jug.** 9,0, **Stab.** 25, **Seg.** 54, **Ly.** 11, **Mo.** 0,3
} **schwerste Basophilie und Metachromasie, außerdem Mikrozyten und Normoblasten reichlich.**

Unter Vakzine-Serumtherapie erfolgte zunächst etwas Besserung; das Fieber ging vom Typus 37:39° auf 37:38° zurück. Stimmung, Appetit hoben sich, als plötzlich am 12. 6. tödliche Herzschwäche einsetzte. Fieber-Typus und das ganze Krankheitsbild erinnerten an schwere Maltafieberfälle, wie ich sie in Mittelmeerländern sah. Interessant war das Ergebnis der Blutkultur: aërob wuchs zunächst nichts, auf dem damals noch von mir gebrauchten Blut-Serum, anërob zeigten sich ziemlich zahlreiche, porzellanweiße Kolonien. Im hängenden Tropfen fanden sich kleinste, unbewegliche, eben sichtbare Gebilde. Die Färbung war schwierig; die gewöhnlichen Verfahren ergaben nur undeutliche Bilder. Erst bei stundenlanger Einwirkung der Giemsa-Färbung fanden sich tiefblau gefärbte, kleinste, leichtgekrümmte Kurzstäbchen, an beiden Polen stärker gefärbt und an dem einen Pol breiter wie am anderen. Auffallend war die vielfach parallele Lagerung mehrerer Stäbchen nebeneinander. An verschiedenen Stellen sah man 2 Stäbchen im spitzen bis rechten Winkel aneinander gelagert: Also Pseudo-Verzweigung; das Bakterium ist grampositiv, junge Kulturen nehmen die Neissersche Polfärbung an. Bei Abimpfung wuchsen die Kulturen aërob, ließen sich aber nur 6—9 Tage lang übertragen. Herr Geheimrat Prof. Dr. Heim in Erlangen hatte mit seinem Assistenten, Herrn Dr. Schlirf, die Liebenswürdigkeit, eine Mikrophotographie eines Ausstriches der erst gewonnenen Kultur in 1000facher Vergrößerung mit Apochromat 3 mm anzufertigen (Fig. 1).

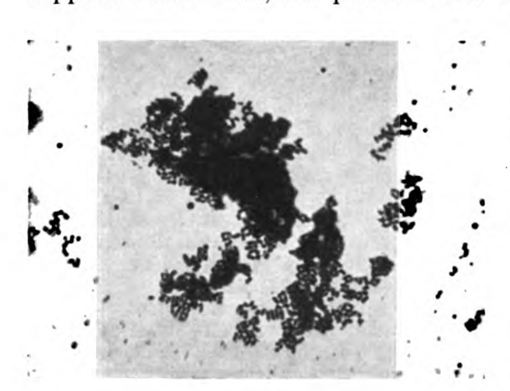


Fig. 1.

Tierversuche: Stamm 1127, gezüchtet aus Zervikalsekret von Elise R. am 4. 3. 25: Verimpfung auf 3 weiße Mäuse von 20 g

Gewicht, subkutan 1 ccm Agarabschwemmung, am 11. 3. 25 vormittags 12 Uhr.

Maus 1: tot 3,30 Uhr nachmittags. Stark blutige Schnauze, Herzblut flüssig, Lunge tiefdunkelblau-rot, Stückchen im Wasser untersinkend, Milz, Leber, Niere blaurot, brüchig, wenig vergrößert. Im Herzblut das Kurzstäbchen.

Maus 2: tot 3,18 Uhr nachmittags. Herzblut flüssig, Lunge dunkelblau-rot, unregelmäßig gefärbt, dazwischen hellere Stellen, Niere und Milz schwarzrot, Leber blaurot, starke Injektion der Gefäße an Bauchhaut, Bauchmuskeln, Bauchfell und Mesenterium, besonders aber an Harnblase. Die Maus entleerte blutigen Harn, Harnblase war noch damit gefüllt. Im Herzblut das Kurzstäbchen.

Maus 3: Schwer krank seit 5 Uhr nachmittags. In der Nacht vom 12. 3. 24. verendet. Herzblut flüssig, Lunge voll dunkelroter Herdchen, Milz, Leber, Nieren braunrot, alle Gefäße stark injiziert. Im Herzblut das Kurzstäbchen.

Der Tod der 3 Mäuse ist also mit höherer Wahrscheinlichkeit durch Toxinwirkung erfolgt. Diese Ektotoxinwirkung ist ja der ganzen Gruppe der Diphtherie-Streptothrix eigen. —

Auffallend ist die Aehnlichkeit des Kleinwesens mit dem von Preiß beschriebenen Coryne-Bakterium abortus infectiosi der Rinder bzw. mit dem von diesem Bakterium nicht zu unterscheidenden Erreger des Maltafiebers. Ich halte den gefundenen Erreger, wenn nicht identisch, so mindestens artverwandt mit diesen beiden Bakterien.

Wie die ganze Diphtherie-Streptothrixgruppe bildet er auf Lakmus-Zuckernährböden Säure, Bouillon wird leicht getrübt. Traubenzucker- und Neutralrotagar nicht verändert, in Gelatine kein Wachstum; Agglutination mit 1:50 Verdünnung des Krankenserums. Mit Serum von Corynebakterium abortus infectiosi der Rinder, vom Hygienischen Institut der tierärztlichen Hochschule Hannover freundlichst überlassen, erfolgte Agglutination bis 1:150.

Außer der obigen Erkrankung konnten wir seitdem noch in 23 Fällen das Bakterium nachweisen, und zwar in den Orten Dillingen, Lauingen und Neresheim (in Württemberg). Bei zwei Erkrankungen fand es sich im Blut, davon die eine ein doppelseitiger Adnextumor, die andere ein schweres Wochenbettfieber. Einmal bei chronischem Blasenkatarrh mit Nierenbeckenreizung und Eiweiß-Blut-Ausscheidung war es im Harn. 12mal wurde es durch Cervixkultur nachgewiesen. In letzteren Fällen bestand Fluor albus und Adnexerkrankung. Bisher wurde es nur bei Frauen angetroffen; bis auf den Fall mit den Bakterien in der Harnblase, der nach 1 Jahr rezidivierte, sind alle anderen Erkrankungen unter kombinierter Vakzineserumtherapie geheilt.

Zur Behandlung bakteriämischer und peritonitischer Erkrankungen.

Von Professor Dr. **Georg Mayer**,
Dillingen (Donau), früher München [1]).

1898 stellte ich die eigentümliche Wachstumsbegünstigung fest, welche manche Kleinwesen auf Muzinnährböden, besonders auf Galle, erfahren (Centralbl. f. Bakt. Bd. 25. 1899. Nr. 21—23), 1899 fand ich, daß selbst wenige pathogene Bakterien schwere Erkrankungen und Tod erzeugen, wenn sie zusammen mit einem Fett in die Bauchhöhle von Tieren gespritzt werden. 1900 bei meinen Arbeiten im Kaiserl. Gesundheitsamt zu Berlin sah ich, daß sonst chronische Erkrankungen erzeugende Bakterien bei obigem Impfmodus in perakuter Krankheit raschestens zum Tode führen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. 1899. Nr. 11/12; Virchows Arch. Bd. 160. 1900; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900. Nr. 20).

In China züchtete ich auf diese Weise die von Perthes beschriebene Streptothrix der Noma aus den in Peking von Perthes exzidierten Wangenstückchen von malariakranken Chinesenkindern Münch. med. Wochenschr. 1902 „Briefe aus Ostasien“ V). Während meiner Tätigkeit als Dozent für Hygiene an der Militärärztlichen Akademie München setzte ich 1910—13 die Arbeiten fort und fand, daß das in der Bauchhöhle so geimpfter Tiere entstehende Exsudat imstande ist, bei entsprechender Zubereitung und Konservierung eine Schutz- und Heilwirkung sowohl spezifisch gegen die Impfbakterien, wie allgemein und nichtspezifisch, wenn auch geringer, gegen bakterielle Erkrankungen überhaupt zu entfalten. 1907 fand an der von mir geleitetet Typhusbekämpfungsstation Kaiserslautern mein damaliger Mitarbeiter, Oberarzt Dr. Josef Huber, folgendes: Er entnahm Typhuskranken im Anfang der Krankheit, wenn noch die Keime im Blut kreisten, noch keine Lokalisierung des Prozesses erfolgt war, das Blut, stellte daraus das Serum dar und spritzte dieses den Kranken unter die Haut, also Eigenserumverimpfung. Die Versuche wurden im städtischen Krankenhaus Kaiserslautern zusammen mit Dr. Kinscherf und Dr. Rink ausgeführt. Es ergab sich wiederholt eine auffällige Beeinflussung der Schwere des Krankheitsprozesses, Aussetzen der Delirien, Rückgang des Fiebers, subjektives Wohlbefinden, gutartiger Krankheitsverlauf. Dr. Kinscherf hat hierüber wiederholt berichtet (Vereinsbl. für Pfälzer Aerzte 1907—1910). Auf Grund dieser Beobachtung spritzte ich bei den verschiedensten Infektionskranken Eigenserum ein, oftmals mit gutem Erfolg. Wesentlich ist dabei, daß im Gegensatz zur Verwendung tierischer Sera bei dem arteigenen Serum, selbst bei oftmaligen und großen Dosen nicht mit der Gefahr der Ueberempfindlichkeit zu rechnen ist, welche wir bei der Genickstarre-Epidemie in München 1909 mehrmals in besonders unangenehmer Weise auftreten sahen (Kritische Darstellung der Forschung der übertragbaren Genickstarre

1) Nach einem Vortrag, gehalten im ärztlichen Verein München am 10. 6. 1925.

in Beziehung zur Immunität, Weichardts Jahresberichte 1910). Um die Ueberempfindlichkeit auszuschalten suchte ich überhaupt statt der Tiersera menschliche Sera zur Heilbehandlung zu verwenden. Ich stellte mir aus Ex- und Transsudaten von Körperhöhlen und sonstigen eitrigen Prozessen ein menschliches Serum her, welches unter entsprechender Konservierung praktisch unbegrenzt haltbar ist, im Gegensatz zu den im Handel befindlichen tierischen Heilseren. Auch dieses menschliche Mischserum beeinflußte infektiöse Krankheitsprozesse in teilweise überraschend günstiger Weise. 1912 erschienen dann in Münch. med. Wochenschr. die Ergebnisse von Sanitätsrat Dr. Petri über die Wirkung der Blutentziehung, wo er nachwies, daß selbst kleine Blutentziehungen bereits zu einer erheblichen Umstimmung des Blutes Anlaß geben. Es war die wissenschaftliche Bestätigung der Wirkung des Aderlasses, der nicht umsonst zu allen Zeiten von den Aerzten aller Völker geübt wurde und ja neuerlich wieder bei Lungenentzündung, Nierenentzündung angewandt wird.

Als ich 1913 mit der deutschen Militärmission als oberster Sanitätsoffizier und Vizepräsident der Medizinalabteilung nach Konstantinopel kam, konnte ich meine bis damals im kleinen betriebenen Versuche im großen ausführen, insbesondere auch solche über Vakzination mit den aus dem Kranken selbst gezüchteten Keimen, also mit Eigenvakzinen, die mir wiederum gute Erfolge gegeben hatten, gegenüber den fabrikmäßig dargestellten Vakzinen. Die Eigenvakzinen sind eben in viel spezifischerer Weise auf die jeweiligen Krankheitskeime des Körpers eingestellt. Ich folgte hier Bahnen, die in England und Amerika beschritten waren und die ich 1913 in London praktisch kennen lernte. In der Türkei veranlaßte ich zunächst bei den damals massenhaft herrschenden, Militär- und Zivilbevölkerung dezimierenden Seuchen die Vakzination der ganzen Armee und großer Teile der Zivilbevölkerung, und zwar gegen Blattern, Unterleibstyphus, Ruhr, Cholera und in Mesopotamien gegen Pest. Der Erfolg war, daß in einigen Wochen die türkische Armee gesund war und blieb, solange meinen Ratschlägen gefolgt wurde, daß aufflackernde Epidemien rasch unterdrückt werden konnten, daß die Pest in Bagdad um das Zehnfache zurückging. Gleich im Anfang meiner Tätigkeit ließ ich durch Enver-Pascha einen Erlaß herausgeben, der in die von mir verfaßten Sanitätsvorschriften für die türkische Armee aufgenommen ist, er lautet: „18. XI. 1330. Maßregeln gegen Flecktyphus und Rückfalltyphus. Ziffer VIII. Bei Flecktyphus soll den Kranken mehrmals 20 ccm Blut entnommen werden und das abgesetzte Blutserum ihnen wieder unter die Haut gespritzt werden“. (Sanitätsdienstvorschriften für das kaiserlich osmanische Heer, Buchdruckerei Amiré, Konstantinopel, 1330, S. 162). Hier also wurde von mir bereits im Februar 1914 die Behandlung mit Eigenserum bzw. später prophylaktisch mit Genesendenserum beim Flecktyphus eingeführt, die sich vielfach gut bewährte. Zugleich erprobte ich bei den massenhaften Infektionskrankheiten die Therapie mit Eigenserum, mit menschlichem Exsudatserum und die Autovakzinetherapie. Es kam der Krieg und als Armeearzt der Dardanellenarmee konnte ich die Wirksamkeit der Maßnahmen beobachten; denn obwohl im Anfang der Mobilmachung das V. türkische Korps aus Angora mit Cholera infiziert in Konstantinopel anlangte, obwohl das VIII. Korps aus Damaskus die ägyptische Augenentzündung in hunderten von Fällen mitbrachte, obwohl im Anfang des Dardanellen-Feldzuges eine Skorbut- und eine Ruhrepidemie

aufflackern wollte, so gelang es doch den Dardanellen-Feldzug unter den türkischen Truppen bis zum Abzug der Feinde praktisch seuchenlos durchzuführen und die wenigen infektiösen Erkrankungen in Seuchenlazaretten sicher zu isolieren, während im Gegensatz dazu die feindlichen Armeen in schwerster Art unter Seuchen litten und zum Teil hierdurch der Abzug bedingt war.

A. Bakteriämische Erkrankungen.

Die jetzigen experimentellen und praktischen Arbeiten begannen Mai 1924. Die in folgendem angezogenen Fälle sind mir von den behandelnden Aerzten mitgeteilt worden; es handelt sich also ausschließlich um objektive Beobachtungen von 3. Seite.

Untersuchungsmethoden.

In allen zweifelhaften Fällen empfehle ich das Schillingsche Hämogramm. Wenn die genaue Handhabung nach Schilling auch rund 1 Stunde Zählarbeit für jeden Einzelfall beansprucht, so ist das Hämogramm in der Hand des Geübten ein unschätzbares Mittel zur Diagnose überhaupt und zur Erkennung der Schwere des Krankheitsfalles; es hat uns in hunderten von internen, chirurgischen und gynäkologischen Fällen vorzügliche Dienste geleistet.

Hand in Hand damit geht die Blutkultur. Hämogramm und Blutkultur erhalten ihr Material zusammen durch einen Einstich mit der Impfnadel oder Impffeder in das mit Aether gereinigte und mit 10proz. Jodtinktur desinfizierte Ohrläppchen: Die ersten 3 Blutstropfen werden scharf abgewischt mit steriler Watte, der 4. Tropfen wird auf einem Objektträger mit einem anderen Objektträger mit abgeschnittenem Rand ausgestrichen, mit dem 5. und 6. Tropfen werden zwei dicke Tropfen angelegt, den 7.—12. Tropfen läßt man in ein Galle-Serumröhrchen laufen; an dem Ohrläppchen darf nicht gedrückt werden. Es muß geachtet werden, daß das Blut „tropft", deswegen genügend tiefer Einstich. Dann läßt sich auch die Verunreinigung durch Haut- und Luftbakterien meiden. Sicherer ist es jedoch, das Blut durch Venenpunktion unter Reinigung der Haut (wie angegeben) zu entnehmen. Conradi hat bekanntlich das Galleröhrchen zur Züchtung von Bakterien der Typhusgruppe eingeführt. Ich verwende dasselbe zusammen mit Serum zur Beimpfung sowohl aus Blut wie bei Frauenleiden aus Cervix und Vagina, zur Beimpfung aus der Harnblase, zu jener bei Haut-, Zahn-, Mund-, Nasen-, Ohren-, Augenleiden, und zwar mit gleichem Erfolg bei Mensch und Tier. Die verschiedenen Kleinwesen werden nicht, wie vielfach angenommen, aufgelöst, sondern reichern sich in 18—24stünd. Bebrütung an. Es wachsen z. B. die Spirochäten der Mundhöhle. Aus den Galleröhrchen wird nach 18—24 Std. auf drei Serumnährböden geimpft, die eventuell sofort zur Darstellung der Autovakzine dienen. Als Nährboden verwende ich den von Merck in Darmstadt dargestellten Kuczynski-Nährboden, Standard I, und zwar ein Bouillonröhrchen mit Serumzusatz, ein Agarröhrchen mit ebensolchem Zusatz und ein Agarröhrchen mit Zusatz von roten Blutkörperchen. Eine besondere Art der Beimpfung ist nötig, nicht mit der Oese, da man hier kein, oder ein zu geringes Wachstum bekäme. Vielmehr werden Galleröhrchen und das Nährbodenröhrchen über der Flamme abgesengt und, neben der Flamme arbeitend, aus dem Galleröhrchen in das Nährbodenröhrchen eine kleine Menge hinübergegossen, die dann

noch über dem Agar hin- und herlaufen gelassen wird. Bei der nötigen Uebung ist Verunreinigung durch Luftbakterien ausgeschlossen. Wenn sich überhaupt Keime finden, so sind sie in jedem Fall darzustellen, sowohl aus dem menschlichen wie tierischen Körper. In geeigneten Fällen läßt sich, wenn nichts wächst, durch Ausschließung die Diagnose latenter Tuberkulose stellen, welche durch Tuberkulinbehandlung sicher gestellt wird.

Als Sepsissera werden verwendet:

a) Sepsis-Vaccinol-Serum: Gewonnen aus Tieren durch Bauchhöhlenimpfung mit Fett und dem jeweiligen Bakterium, im Schüttelapparat behandelt, durch besondere Konservierung praktisch unbegrenzt haltbar, je älter, desto besser, da allmählig eine Auflösung der Bakterien erfolgt; das Impfmaterial aus möglichst vielen Tieren (zur Zeit 26) gemischt und zum alten Serum immer neuer Impfstoff hinzugesetzt. Dieses Serum darf wegen der Gefahr der Ueberempfindlichkeit nur 3 Tage lang gegeben werden. Es wird in einer Menge von 25 ccm intramuskulär injiziert.

b) Pantoserum: Bestehend aus Sepsisvakzinolserum zusammen mit den im Schüttelapparat zertrümmerten Vakzinen (derzeit 241) aus dem Blut von Menschen gezüchteten Bakterienkulturen, in Menge von 25 ccm intramuskulär.

c) Auto-Serum: Dem Kranken werden sofort ca. 100—150 ccm Blut entzogen, daraus das Serum dargestellt, haltbar gemacht und dem Kranken in Mengen von ca. 25 ccm in 24stünd. Abstand intramuskulär injiziert. Das Autoserum wirkt oft allein bereits heilend.

d) Sepsisserum humanum: Gewonnen aus einer Mischung möglichst vieler Ex- und Transsudate des menschlichen Körpers (zur Zeit 26), wiederum je älter, desto besser; zur Fortsetzung der unter a—c genannten Behandlungen, gleichzeitig mit der Autovakzine, mit der zusammen es intramuskulär in Mengen von 25 ccm alle 2 Tage schadlos beliebig lange gegeben werden kann.

e) Autovakzine: Wird aus dem Galleröhrchen und den 3 Serumröhrchen mit Kalziumlösung dargestellt, bei 56° behandelt, in Glasampullen von 1 ccm abgefüllt, so daß auf 1 ccm 1—2 Milliarden Keime treffen; in den Ampullen unbegrenzt haltbar. Dosis: In schweren Fällen täglich 1 Ampulle, sonst 3 Tage hintereinander je 1 Ampulle, dann 2—3tägig je 1 Ampulle intramuskulär. 10 Ampullen werden verabreicht, hierauf neue Blutkultur um die dann noch etwa vorhandenen Keime mit ihrer Eigenvakzine zu bekämpfen. Die hier angeführten Verfahren erfolgen sämtlich mit praktisch ungiftigen Mitteln, es kann niemals damit Schaden angerichtet werden; höchstens entstehen örtliche Unbequemlichkeiten durch die Einspritzungen. Es liegt im Grunde eine Protein-Körpertherapie mit hoch spezifischen und nichtspezifischen Reizmitteln vor.

Wie aus Blut gegen Bakteriämie, so stellen wir bei gynäkologischen Erkrankungen gegen Ausflüsse gonorrhoischer oder nichtgonorrhoischer Art, gegen Adnexerkrankungen Eigenvakzine aus dem Zervixsekret her; zur Entnahme dient ein Löffelchen mit langem Stiel, ungefähr 3 Löffelchen voll werden in das Galleserumröhrchen gebracht. Bei Hauterkrankungen, Mittelohreiterungen, Mund- und Zahnerkrankungen, dann jenen von Lunge, Darm, Blase, werden in ähnlicher Weise Eigenvakzinen zur Injektion, Spülung, Inhalation hergestellt.

Nach dieser Methode wurden vom 1. 5. 1924 bis 15. 1. 1926 folgende Fälle von Bakterämie mit schwerer, allgemeiner Erkrankung behandelt[1]: Staphylococcus pyogenes albus haemolyticus (im Gegensatz zu den nicht pathogenen, nicht hämolytischen Arten. Eine größere Zahl der Stämme wurde auch auf Tierpathogenität geprüft; die gefundenen Stämme erwiesen auch teilweise durch die prompte Vakzinewirkung ihre Beteiligung am Krankheitsprozeß): 31 Fälle (2 gestorben.) — Staphylococcus pyogenes aureus: 5 Fälle (einer gestorben). — Streptococcus pyogenes haemolyticus: 24 Fälle (2 gestorben). — Pneumococcus: 13 Fälle (4 gestorben, davon 3 an Zerebrospinalmeningitis). — Meningococcus intracellularis: 3 Fälle (1 gestorben). — Gonococcus: 6 Fälle. — Corynebacterium parvum infectiosum: 4 Fälle (1 gestorben). — Micrococcus tetragenus: 3 Fälle. — Bacillus Friedländer: 1 Fall. — Bacillus influenzae: 2 Fälle (1 gestorben an Encephalitis lethargica). — Aspergillus fumigatus: 2 Fälle. — Bacillus paratyphi B: 2 Fälle. — Bac. paratyphi A: 2 Fälle. — Bac. typhi abdominalis: 2 Fälle. — Gasbrandbazillus Fränkel: 1 Fall. — Fleischvergiftung: 4 Fälle (1 gestorben). Im ganzen demnach 106 Fälle, davon 14 gestorben oder 13,2 Proz.

6 Fälle kamen so spät in Behandlung, daß bereits Lokalisierung der Krankheitserreger und sekundäre Organveränderungen stattgefunden hatte. Daher waren die Heilungsaussichten nur sehr gering; trotz vorübergehender Besserung des Krankheitsbildes konnte der tödliche Ausgang nicht verhütet werden. In einem Fall handelt es sich um eine derartig massive perakute Infektion mit Influenzabazillen, daß von vornherein alle Maßnahmen wirkungslos sein mußten. 3 Fälle sind Gehirn-Rückenmarkshautentzündungen durch den Pneumokokkus, eine bekannt bösartige Infektion. Interessant war die Sepsis mit Diphtheriebazillen im Blut, die unter schwersten Herzerscheinungen zum Tode führte. Ueber die Erkrankungen durch Corynebacterium parvum infectiosum wird an anderer Stelle berichtet. Die 92 genesenen Fälle haben gemeinsam die oft geradezu augenfällige Einwirkung der Vakzine-Serumtherapie; in einer großen Zahl erfolgte aus schwerstem Infektionszustand schon in einigen Tagen, manchmal sogar in 12—24 Std., eine derartig rasche, direkt in die Genesung überführende, oft förmlich kritisch einsetzende Besserung, daß die Wirkung der Therapie kaum in Frage gestellt sein dürfte. Es darf gesagt werden, daß in der geschilderten Serum-Eigenvakzinetherapie ein Mittel vorliegt, welches, frühzeitig und richtig angewandt, in bedeutsamer Weise imstande ist, auf Dauer und Art des Verlaufes bakteriämischer Erkrankungen einzuwirken.

B) Peritonitische Erkrankungen.

Die besondere Behandlung erfolgte durch Eingießen von Vakzinoseroform in die Bauchhöhle nach erfolgter Operation. Das Präparat besteht aus einer Mischung möglichst vieler tierischer Sera einerseits, dann einer möglichst großen Zahl Vakzinen von verschiedenartigsten, aus dem Menschen gezüchteten Bakterienstämmen und Bakteriengemischen (z. Zt. 203 Kulturen), endlich aus verschiedenen Stämmen von Milchsäurebazillen (z. Zt. 9 Kulturen), welch letztere lebend zugesetzt werden. Die Milchsäurebazillen sind vorzügliche Antagonisten pathogener Bakterien. Das Präparat bedarf einer Reifungszeit von ca. 3 Monaten, während der eine teilweise Auflösung der zugesetzten Bakterienkörper stattfindet. Es ist dann unbegrenzt haltbar, selbst bei offenem Stehen. Es wirkt in vitro in der Stärke einer 0,05prom.

1) Die Krankengeschichten werden von anderer Seite demnächst veröffentlicht.

Oxycyanatlösung Bakterien vernichtend; dabei ist es völlig ungiftig. Es wurde ohne Schädigung in die Blutbahn und in den Wirbelkanal von Pferden und Rindern eingespritzt. Es dient als Desinfektionsmittel bei Infektionen jeder Art an jeder beliebigen Körperstelle. An Augen, Ohren, Mund, Nase, Haut kann es, wenn es ja reizen sollte, in Verdünnung 1:1 mit abgekochtem, abgekühlten Wasser verwandt werden. Große Eiterungen in Körper- und Gelenkhöhlen, Knocheneiterungen, auch solche tuberkulöser Art, werden gut beeinflußt. Bei Scheidenkatarrhen, insbesondere gonorrhoischen, bei Mittelohreiterungen, Zahnerkrankungen, Sehnenscheidenentzündungen, Unterschenkelgeschwüren, ist gute, oft momentan einsetzende Wirkung beobachtet.

In ausgezeichneter Weise bewährte es sich zu Eingießungen in die Bauchhöhle bei vorhandener oder drohender Bauchfellentzündung. Nach vollendeter Operation und Spülung mit 0,85proz. Kochsalzlösung werden 100—300 ccm des Präparates in die Bauchhöhle gegossen, besonders auf die erkrankt gewesenen Teile. Seit Einführung dieser Behandlung haben wir keinen einzigen Fall von Bauchfellentzündung verloren. Selbst schwerste Bauchfellinfektionen heilten glatt und überdies in auffallend kurzer Zeit.

Die Beobachtungen erfolgten an der Chirurgischen Klinik des Herrn Geheimrat Dr. Krecke in München, an der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Berlin-Lichtenberg und im Krankenhaus Dillingen. (Die Veröffentlichung der Krankengeschichten erfolgt von anderer Seite in der Münchener medizinischen Wochenschrift.) Behandelt wurden:

Diffuse Peritonitis nach Appendicitis perforans	**10**	**Fälle**
„ „ „ Ulcus ventriculi perforans	**6**	**„**
Geplatzte Eitertuben mit Nachweis von Streptokokken und Staphylokokken	**1**	**Fall**
Geplatzte Eitertuben mit Nachweis von Gonokokken	**1**	**„**
Uterus-, Becken-, Bauchfelltuberkulose mit haselnußgroßen Knoten auf dem Peritoneum	**1**	**„ (Januar 1926 nach 3/4 Jahren noch gesund).**

Es handelt sich also um 19 Fälle ausgesprochener Bauchfellentzündung. Davon war einer 24 Std. alt, das Magenloch konnte nicht verschlossen werden; ebenso auch nicht in einem anderen Falle. Einmal bei Tubenruptur sind als Erreger Eiterbakterien erwiesen. In einem weiteren Falle schwinden alle Erscheinungen von Gebärmutter- und Bauchfelltuberkulose, eine kindskopfgroße Parametriumgeschwulst geht auf Kleinhühnerei-Größe zurück; seitdem keine Erscheinungen mehr. Ein weiterer Fall ist eine schwere, durchgebrochene Wurmfortsatzentzündung. Wieder ein anderer ebenso, dabei aber erst nach 3 Tagen bestehenden, schwersten Erscheinungen operiert. In einem dritten Fall bestand eitrig-jauchige Bauchfellentzündung mit Gangrän des Wurmfortsatzes und beginnender Gangrän der Dünndarmschlingen im kleinen Becken. Derartige auffallende, hintereinander erhobene Befunde, 19 Fälle von Bauchfellentzündung gewissermaßen per primam geheilt können nicht rein zufällig so günstig und rasch verlaufen sein; es ist vielmehr anzunehmen, daß die Bakterien und Toxine vernichtende Wirkung des Vakzinoseroforms bei der Heilung eine bedeutende Rolle gespielt hat.

Contribution à l'étude de l'étiologie du goitre endémique. Goitres expérimentaux produits chez des rats blancs par alimentation avec de l'eau infectée.

[Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne (Professeur Dr. B. Galli-Valerio).]

Par le Dr. **Fr. M. Messerli,**

Privat-Docent à l'Université de Lausanne et Chef du Service d'Hygiène de la Ville de Lausanne.

Avec 49 figures dans le texte.

J'écrivais en 1922 que: „tout en nous associant à la lutte prophylactique que nos Autorités Fédérales ont, avec beaucoup de raison, l'intention d'entreprendre, nous ne devons pas délaisser les recherches scientifiques sur l'étiologie du goitre endémique et sur les questions qui se rattachent à ce sujet comme, par exemple, la croissance physique et intellectuelle" etc.[1]) et je signalais que „les recherches expérimentales de production du goitre chez des animaux, telles celles de Bircher[2]), Mac Carrison[3]), Hirschfeld et Klinger[4]), Langhans et Wegelin[5]), Grassi et Miraldi[6]), Messerli[7]), etc., fourniront également d'intéressantes contributions à l'étude de l'étiologie du goitre endémique.

Depuis l'adoption de mesures prophylactiques officielles, vente de sel iodé à la population et distribution de pastilles de iodostarine aux écoliers, etc., les recherches scientifiques sur l'étiologie du goitre endémique semblent quelque peu délaissées en Suisse. On semble se complaire à considérer comme résolue la question de l'étiologie du goitre ensuite des recherches chimiques de Fellenberg[8]) et des statistiques et travaux de Bayard[9]), de Hunziker[10]) et Eggenberger[11]) qui accusent la carence iodée de l'endémie goitreuse, le goitre, selon, eux, devant être considéré comme une hypertrophie compensatrice permettant à l'organe de fixer une plus grande quantité d'iode quant l'appoint iodé est insuffisant.

Le fait de constater un rapport inverse entre la teneur des eaux et des aliments en iode et la répartition du goitre ne peut être considéré

1) Schweiz. med. Wochenschr. 1922. No. 25 et 26.
2) Ztschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. 9. 1911. S. 1.
3) Mac Carrison, The etiology of goitre. London 1912. — Indian Journ. of med. Res. Vol. 1. 1913. No. 3 et Vol. 2. 1914. No. 1.
4) Hirschfeld, L., u. Klinger, R., Arch. f. Hyg. Bd. 85. 1916. S. 139. — Klinger, R., ibid. Bd. 86. S. 212.
5) Langhans, Th., u. Wegelin, C., Der Kropf der weißen Ratte. Bern 1919.
6) Grassi, B., et Miraldi, M., Annali d'Ig. sperim. Vol. 25. 1915. p. 321.
7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 211.
8) Trav. de chim. aliment. publ. par le Service Fédér. de l'Hyg. publ. 1924. p. 233 et 1925. p. 100.
9) Bayard, O., Beiträge zur Schilddrüsenfrage. Basel 1919.
10) Hunziker, H., Der Kropf. Bern 1915. — Corr.-Bl. f. schw. Aerzte. 1908. No. 7 u. 8. — Schweiz. med. Wochenschr. 1921. No. 15.
11) Schweiz. med. Wochenschr. 1923. S. 280. — Rev. méd. de la Suisse Rom. 1924. Mars.

comme la preuve de l'exactitude de la théorie de la carence iodée ou de l'insuffisance d'iode comme cause étiologique du goitre; en effet, l'iode doit être considéré comme un agent neutralisant, qui produit une diminution de la fréquence du goitre, voire même l'immunité de certaines régions où l'endémie régnerait sans cela; l'iode agit vis à vis de l'endémie goîtreuse comme la quinine vis à vis de l'infection malarienne et il ne viendra actuellement à personne l'idée de prétendre que la malaria est due à la carence en quinine; c'est ce que fait d'ailleurs ressortir B. Galli-Valerio dans son cours d'hygiène aux étudiants de l'Université de Lausanne.

Même le travail de Hercus, Benson et Carter[1]) démontrant qu'à la Nouvelle Zélande le goitre est réparti de façon inversement proportionnelle à la quantité d'iode dans le sol n'est pas du tout en opposition avec la théorie hydrique; c'est au contraire une nouvelle preuve du rôle de l'iode comme agent neutralisant du goitre. D'ailleurs Wegelin[2]) a fait remarquer avec raison qu'un stimulant sur la sécrétion de la thyroïde manque dans la carence iodée, et qu'au lieu d'une hypertrophie on devrait s'attendre à une atrophie.

La question de l'étiologie de l'endémie goitreuse n'est donc pas résolue par le traitement et la prophylaxie de cette endémie au moyen de l'iode; elle reste ouverte et de nouvelles recherches expérimentales y relatives ne seront pas inutiles[3]).

Anciennes recherches expérimentales.

Il ne semble pas inutile de rappeler ici les recherches expérimentales faites précédemment sur des animaux et spécialement sur des rats blancs.

E. Bircher[4]) fut l'un des premiers à entreprendre des recherches expérimentales de transmission du goitre au rat blanc avec des eaux de zones à goitre. Les résultats positifs qu'il obtint sont très importants; en outre il démontra par ses recherches que le filtrage de l'eau goitrigène ne la rendait pas inoffensive, tandis que l'ébullition empêchait la contagion strumigène.

Wilms[5]) expérimentant aussi sur des rats blancs a démontré que l'eau goitrigène perdait son pouvoir toxique à 90°.

Mc Carrison[6]) a provoqué expérimentalement de multiples goitres chez le rat et chez l'homme — entr'autre un sur lui-même — par ingestion d'eau souillée. Il a aussi démontré que l'ébullition fait perdre à l'eau son pouvoir goitrigène et, en outre, a constaté que le 63% des jeunes rats nés de parents goitreux étaient atteints du goitre.

Par des expériences faites de 1912 à 1914 sous la direction du Professeur B. Galli-Valerio, à l'Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne, il m'a été possible de provoquer des goitres chez des rats blancs alimentés avec de l'eau de Payerne, eau d'origine superficielle et infectée[7]). — Je concluais „c'est une nouvelle preuve que le goitre peut être produit par suite d'ingestion d'eau souillée, provenant d'une zone à goitre, théorie que j'ai soutenue dans mes précédents tavaux[8]) à l'appui des vues de Mc Carrison[9])".

Quelque temps après que j'eus terminé cette série de recherches, Grassi, en examinant les préparations résultant de ces recherches et expériences, préparations qui sont visibles au musée d'hygiène de l'Université de Lausanne, eut l'impression

1) The Journ. of Hyg. Vol. 24. 1925. p. 231.
2) Wien. klin. Wochenschr. 1925. No. 1.
3) Voir B. Galli-Valerio, L'endémie thyroïdienne. Bibl. univ. 1923. p. 162.
4) Ztschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. 9. 1911. S. 1.
5) Centralbl. f. Chir. 1910. No. 21. Beilage.
6) Mac Carrison, The etiology of goitre. London 1912. — Indian Journ. med. Res. Vol. 1. 1913 No. 3 et Vol 2. 1914. No. 1.
7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1914. S. 211—219.
8) Messerli, Contribution à l'étude de l'étiologie du goitre endémique. Lausanne 1913; Rev. Suisse de Méd. 1914. No. 13.
9) The etiology of endemic goitre. London 1913.

que les thyroïdes considérées à Lausanne comme normales étaient hypertrophiées par rapport à celles des rats de Rome, et il constata après études comparatives que „les thyroïdes des rats de Lausanne et de Heidelberg étaient plus volumineuses que celles des rats de Rome [1])“.

D'autre part, Grassi et Miraldi constatèrent que des rats provenant de régions indemnes de goitres et placés dans un foyer à endémie goitreuse acquieraient des goitres quoique alimentés au moyen d'eau et de pain provenant de régions non goitreuses.

Hirschfeld et Klinger [2]) ne réussirent pas à provoquer de goitre chez des rats experimentés dans une région libre de goitre et alimentés avec de l'eau provenant de région goitreuse.

Langhans et Wegelin [3]) ont soumis des rats à différentes eaux et au régime lacté; ils ne peuvent affirmer que l'eau soit le véhicule de l'agent du goitre, comme ils ne peuvent l'infirmer. Ils ont aussi constaté que des rats nourris avec du lait avaient acquis des goitres; il y a lieu de relever que cette dernière expérience a été faite dans un pays riche en goitre et, par conséquent, il n'est pas exclu que le lait ait été souillé comme l'eau.

Des recherches citées ci-dessus, il ressort que tous les auteurs, à l'exception de Hirschfeld et Klinger [4]) et de Langhans et Wegelin [5]) ont obtenu des résultats nettement positifs et réussi à provoquer goitres chez des rats.

Langhans et Wegelin estiment eux-mêmes que leurs recherches ne sont pas concluantes; celles de Hirschfeld et Klinger ne le sont pas davantage tant qu'elles n'auront pas été confirmées ou répétées; elles ont d'ailleurs été faites à Zurich qui est au centre de l'endémie goitreuse en Suisse Allemande.

Nouvelles recherches.

De nouvelles expériences me semblaient nécessaires afin de vérifier celles faites antérieurement et de réaliser si possible un nouveau pas dans le problème encore ouvert de l'étiologie du goitre endémique.

Après les recherches faites en 1912—1914, j'ai, à deux reprises, entrepris de nouvelles expériences en alimentant trois groupes de rats blancs de la façon suivante:

1) Un groupe avec de l'eau de Lausanne bouillie.

2) Un groupe avec de l'eau de Lausanne bouillie filtrée ensuite à travers des matières fécales humaines.

3) Un groupe avec de l'eau de Lausanne ordinaire.

Lors du premier essai tenté en 1915—1916, tous les rats moururent successivement de broncho-pneumonie. — Une nouvelle tentative fut entreprise en 1917—1918; mais par suite d'une erreur d'alimentation des rats, j'ai été dans l'obligation d'annuler ces recherches après une année d'expérimentation, toute constatation certaine et par suite toute conclusion étant impossibles; en effet, le remplaçant du garçon de laboratoire, qui était en service militaire, n'avait pas observé scrupuleusement l'alimentation en eau différente des animaux en expérience. Cet exemple montre combien peuvent être sujettes à caution les expériences faites en confiant les animaux à des personnes non soumises à un contrôle strict, comme. Cont fait plusieurs auteurs cités ci-dessus.

Un nouvel essai fut tenté en 1923, c'est celui dont les résultats sont décrits ci-dessous.

1ère Série. 10 rats blancs de même âge (agées de 6 mois environ au début de l'expérience, nés à Lausanne).

Début de l'expérience le 8 juin 1923.

---

1) Annali d'Ig. sperim. Vol. 25. 1915. p. 321—341.

2) Arch. f. Hyg. Bd. 85. 1916. S. 139—189; Bd. 86. 1917. S. 212—217.

3) Langhans, Th., u. Wegelin, C., Der Kropf der weißen Ratte. Bern 1919. S. 217.

4) Travaux cités.

5) Travaux cités.

Tués pour autopsie le 7 novembre 1924, après 17 mois.

Ces rats ont été répartis en trois groupes dans les cages de l'Institut d'hygiène de l'Université de Lausanne.

A part l'eau d'alimentation, ces divers groupes reçurent exactement la même nourriture (graines de blé, d'avoine et pain sec).

1er Groupe: Rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie (Cage No. 19).

	No. 1	No. 2	No. 3	Moyenne
1) Poids du rat	250 g	255 g	260 g	255 g
2) Largeur du lobe dr.	2,5 mm	2 mm	2 mm	2,16 mm
3) „ „ „ g.	3 „	2 „	2 „	2,33 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	8,5 „	6,5 „	6,5 „	7,16 „
5) Epaisseur du lobe dr.	4 „	4 „	3,5 „	3,83 „
6) „ „ „ g.	4 „	3,5 „	3,5 „	3,66 „
7) Hauteur du lobe dr.	6,5 „	4,5 „	8 „	6,33 „
8) „ „ „ g.	6,5 „	8 „	6 „	6,83 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	55,25	40,625	45,5	47,125
10) „ 5 et 6 × 9	151,93	81,25	91	108,06

Les surfaces des corps thyroïdes sont plates, plutôt régulières.

2ème Groupe: Rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie, passée ensuite à travers des matières fécales humaines. (La quantité d'eau nécessaire pour l'alimentation des rats était préparée chaque semaine.) (Cage No. 20.)

	No. 4	No. 5	No. 6	Moyenne
1) Poids du rat	250 g	265 g	242 g	252,66 g
2) Largeur du lobe dr.	4,5 mm	5 mm	4 mm	4,5 mm
3) „ „ „ g.	3,5 „	7,5 „	5 „	4,33 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	9 „	14 „	11 „	11,33 „
5) Epaisseur du lobe dr.	6 „	6 „	5,5 „	5,83 „
6) „ „ „ g.	5,5 „	8 „	6,5 „	6,66 „
7) Hauteur du lobe dr.	11,5 „	10 „	14 „	11,66 „
8) „ „ „ g.	11 „	12 „	12,5 „	11,53 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	101,25	154	132,5	129,25
10) „ 5 et 6 × 9	528,18	1078	795	800,37

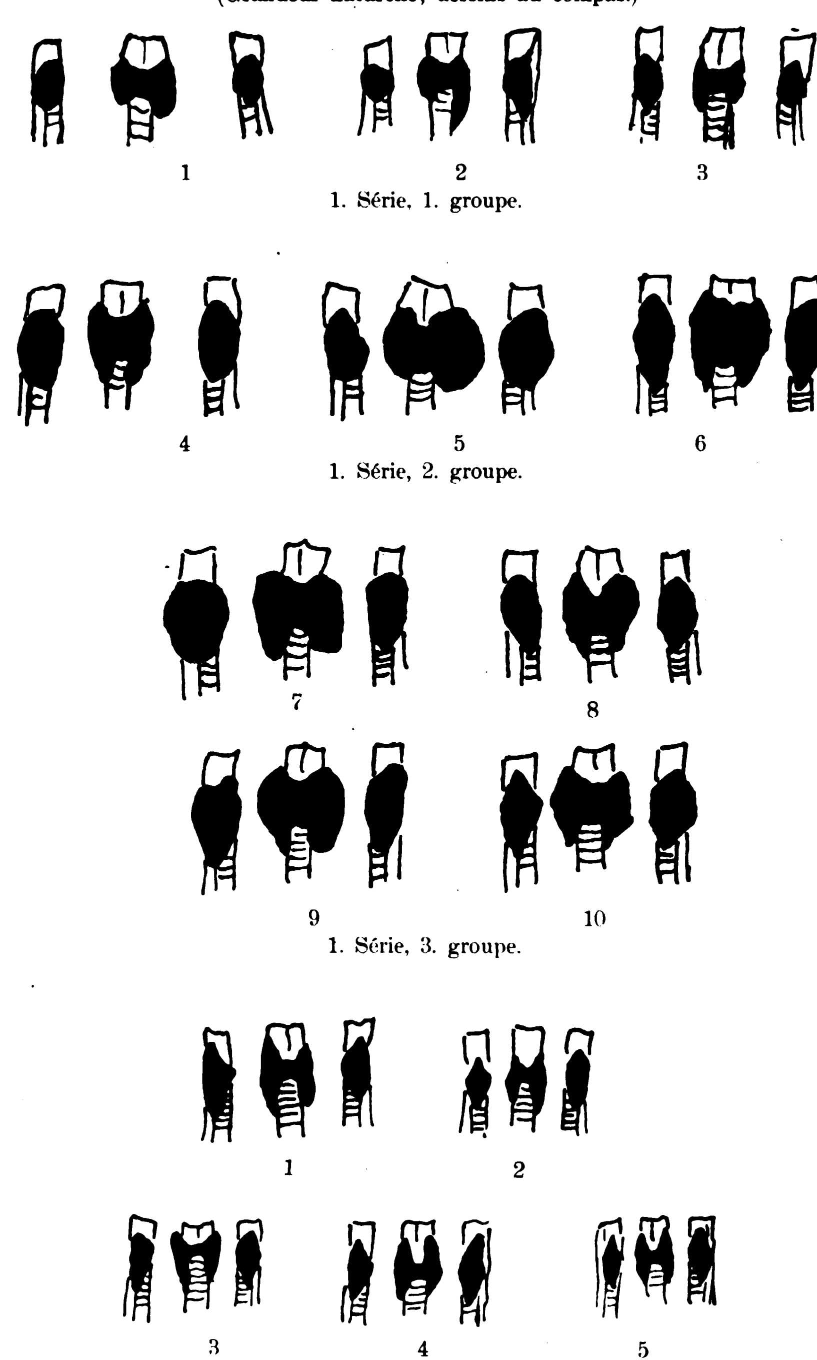
Les surfaces des corps thyroïdes sont irrégulières; les corps thyroïdes spécialement ceux des No. 5 et 6 présentent un aspect franchement nodulaire qui est également visible sur la photographie.

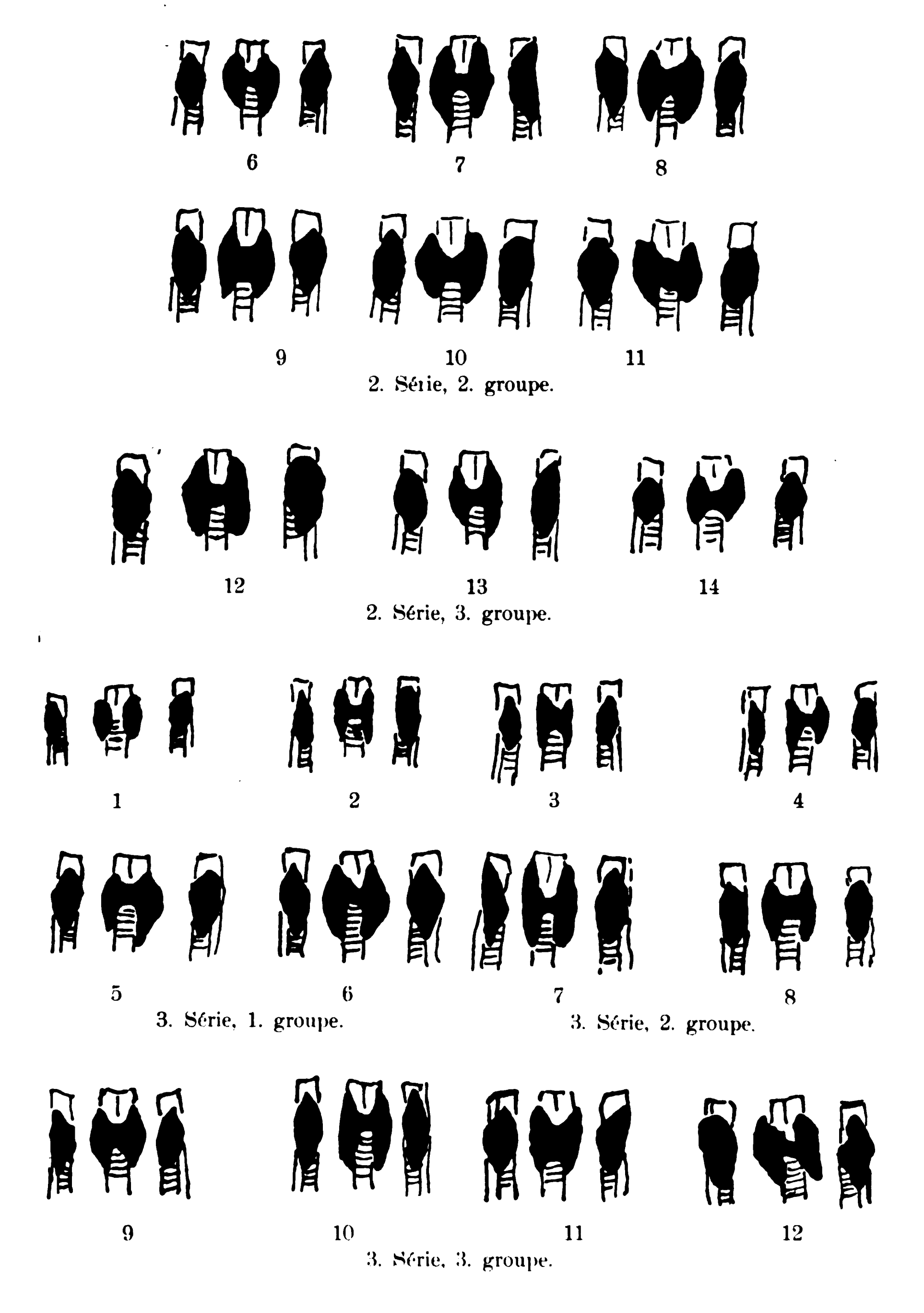
3ème Groupe: Rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire (Cage No. 21).

	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	Moyenne
1) Poids du rat	285 g	235 g	265 g	250 g	256,25 g
2) Largeur du lobe dr.	6 mm	3 mm	5 mm	4 mm	4,5 mm
3) „ „ „ g.	5 „	4 „	4,5 „	4 „	4,37 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	12 „	10 „	11 „	10 „	10,75 „
5) Epaisseur du lobe dr.	8,5 „	5 „	6,5 „	5,5 „	6,37 „
6) „ „ „ g.	5 „	5 „	5,5 „	6,5 „	5,5 „
7) Hauteur du lobe dr.	11 „	11 „	12 „	11 „	11,25 „
8) „ „ „ g.	11 „	10 „	11 „	11 „	10,75 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	132	105	127,5	121	121,37
10) „ 5 et 6 × 9	891	525	765	726	751,75

Glandes thyroïdes paraissant nettement hypertrophiées par rapport à celles du groupe 1; mais moins irrégulières et moins nodulaires que celles du groupe 2.

Projections antéro-postérieures et latérales du corps thyroïdes.
(Grandeur naturelle; dessins au compas.)





2. Série, 2. groupe.

2. Série, 3. groupe.

3. Série, 1. groupe. 3. Série, 2. groupe.

3. Série, 3. groupe.

2ème Série. 14 rats blancs de même âge, provenant de 2 nichées, nés fin septembre 1923 à Lausanne.

Début de l'expérience 15 octobre 1923.

Tués pour autopsie le 8 novembre 1924, après $12^1/_2$ mois.

Ces rats ont été répartis en 3 groupes comme ceux de la 1ère série.

1er Groupe: **Rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie** (Cage No. 11).

	No. 1	No 2	No. 3	No. 4	No. 5	Moyenne
1) Poids du corps	180 g	166 g	179 g	195 p	175 g	179 g
2) Largeur du lobe dr.	2,5 mm	2 mm	2 mm	2,5 mm	1,5 mm	2,1 mm
3) „ „ „ g.	2 „	2 „	2 „	2 „	1,5 „	1,9 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	7 „	5,5 „	6,5 „	6 „	5 „	6 „
5) Epaisseur du lobe dr.	4 „	3 „	3 „	3 „	2 „	3 „
6) „ „ „ g.	3,5 „	3 „	3,5 „	3,5 „	3 „	3,3 „
7) Hauteur du lobe dr.	10,5 „	7 „	8,5 „	8 „	7 „	8,2 „
8) „ „ „ g.	8,5 „	8 „	7,5 „	9 „	7,5 „	8,1 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	63	41,25	52	51	36,25	48,7
10) „ 5 et 6 × 9	236,25	123,75	169	165,75	80,625	175,075

Corps thyroïdes petits, réguliers, surface lisse.

2ème Groupe: **Rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie passée** ensuite à **travers des matières fécales humaines** (Cage No. 15).

	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11	Moyenne
1) Poids du rat	162 g	184 g	165 g	170 g	164 g	175 g	170 g
2) Largeur du lobe dr.	3 mm	3 mm	4 mm	3 mm	3 mm	4 mm	3,33 mm
3) „ „ „ g.	3 „	3,5 „	4 „	3 „	3,5 „	3,5 „	3,41 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	7,5 „	9 „	9 „	8 „	10 „	9,5 „	8,83 „
5) Epaisseur du lobe dr.	4 „	4,5 „	4,5 „	5 „	4,5 „	6 „	4,75 „
6) „ „ „ g.	4,5 „	4 „	4,5 „	5,5 „	5 „	5 „	4,6 „
7) Hauteur du lobe dr.	8 „	10,5 „	10 „	10 „	10 „	10 „	9,75 „
8) „ „ „ g.	9 „	11 „	10,5 „	9,5 „	10 „	9 „	9,83 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	59,75	96,75	92,25	78	100	91,25	86,33
10) „ 5 et 6 × 9	253,94	421,19	415,125	409,50	425	501,875	404,44

La rate du rat No. 11 était nettement agrandie.

Corps thyroïdes très irréguliers et volumineux avec nodules nettement visibles sur les corps thyroïdes Nos. 6, 8, 10, 11.

3ème Groupe: **Rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire** (Cage No. 10).

	No. 12	No. 13	No. 14	Moyenne
1) Poids du rat	205 g	180 g	165 g	183,3 g
2) Largeur du lobe dr.	4 mm	3 mm	3 mm	3,33 mm
3) „ „ „ g.	3,5 „	2,5 „	3 „	3 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	9,5 „	7 „	8 „	8,16 „
5) Epaisseur du lobe dr.	5 „	4,5 „	4,5 „	4,66 „
6) „ „ „ g.	5,5 „	3,5 „	4 „	4,33 „
7) Hauteur du lobe dr.	10 „	9 „	6,5 „	8,5 „
8) „ „ „ g.	11 „	11 „	7 „	9,6 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	99,75	70	52	73,91
10) „ 5 et 6 × 9	523,68	280	221	308,13

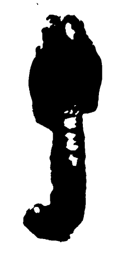
Corps thyroïdes en moyenne plus volumineux que ceux du **groupe** 1 et moins volumineux que ceux du groupe 2. Surfaces régulières.

Photographies grandeur naturelle (dans l'ordre).



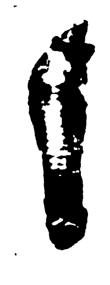


1. Série, 1. groupe. 1. Série, 2. groupe.

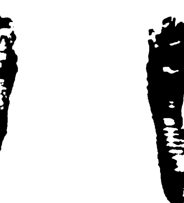





1. Série, 3. groupe.

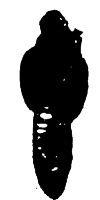
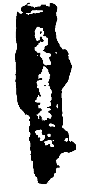






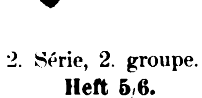
2. Série, 1. groupe.

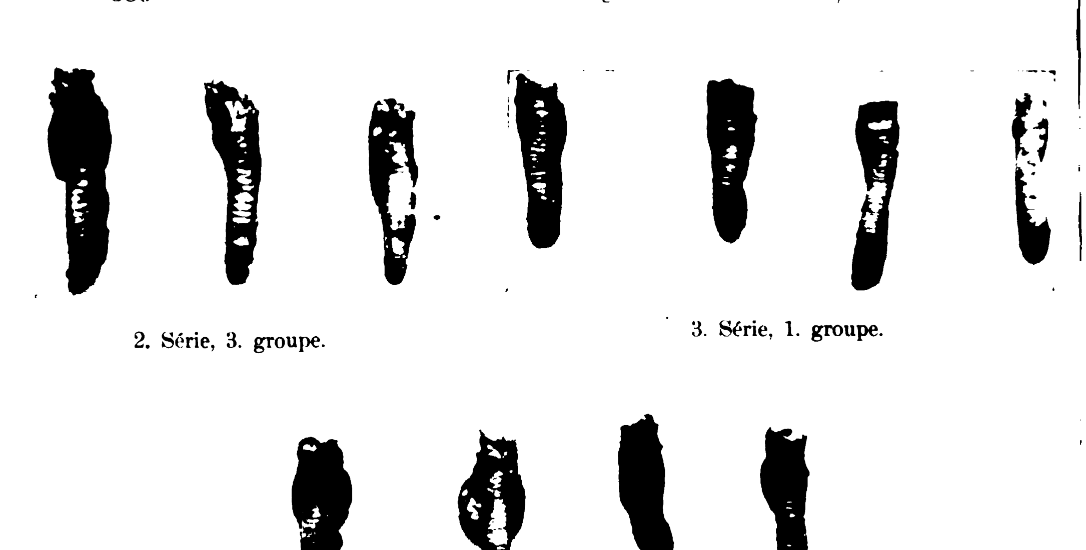




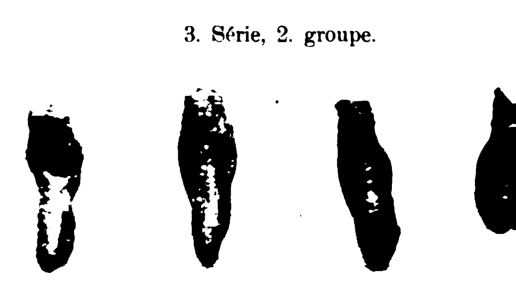
2. Série, 2. groupe.





2. Série, 3. groupe.

3. Série, 1. groupe.



3. Série, 2. groupe.

3. Série, 3. groupe.

3ème Série: 12 rats blancs de même âge provenant de 2 nichées, nés à Lausanne, le 25 novembre 1923; répartis après 15 jours en 3 groupes comme ceux de la 1ère Série.

Début de l'expérience 10 décembre 1923.

Tués pour autopsie le 3 novembre 1924, après 11 mois.

1er Groupe: Rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie (Cage No. 23).

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	Moyenne
1) Poids du rat	155 g	165 g	162 g	170 g	163 g
2) Largeur du lobe dr.	2 mm	1,25 mm	2 mm	2,5 mm	2 mm
3) „ „ „ g.	2 „	1,5 „	1,5 „	2 „	1,75 „
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	4 „	5,5 „	4,5 „	5,5 „	4,875 „
5) Epaisseur du lobe dr.	2,5 „	2,5 „	3 „	2 „	2,5 „
6) „ „ „ g.	2,5 „	3,5 „	3 „	3,5 „	3,25 „
7) Hauteur du lobe dr.	6 „	8 „	7 „	7,5 „	7,125 „
8) „ „ „ g	6,5 „	8 „	6,5 „	7 „	7 „
9) Moyenne 7 et 8 × 4	25	44	30,375	39,875	36,41
10) „ 5 et 6 × 9	62,5	132	91,125	109,65	98,69

Le corps thyroïde du rat No. 1 est sans isthme.

2ème Groupe: Rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie et passée ensuite à travers des matières fécales humaines (Cage No. 24).

	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	Moyenne
1) Poids du rat	135 g	168 g	167 g	160 g	157,5 g
2) Largeur du lobe dr.	2,5 mm	4 mm	3 mm	3 mm	3,15 mm
3) " " " g.	3,5 "	4 "	3 "	2 "	3,15 "
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	8,5 "	9,5 "	8 "	7,5 "	8,625 "
5) Epaisseur du lobe dr.	5 "	4,5 "	4 "	4 "	4,375 "
6) " " " g.	4,5 "	5,5 "	5 "	4 "	4,75 "
7) Hauteur du lobe dr.	8,5 "	10 "	11,5 "	9 "	9,75 "
8) " " " g.	9 "	10,5 "	10,5 "	8,5 "	9,625 "
9) Moyenne 7 et 8 × 4	74,375	97,375	88	65,625	81,35
10) " 5 et 6 × 9	353,28	486,875	396	262,50	374,66

Les rates de ces 4 rats étaient plus volumineuses que celles des autres rats. Corps thyroïdes volumineux, à surface irrégulière.

3ème Groupe: Rats buvant de l'eau de Lausanne ordinaire (Cage No. 22).

	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12	Moyenne
1) Poids du rat	150 g	150 g	175 g	172 g	161,75 g
2) Largeur du lobe dr.	3 mm	3 mm	3 mm	4,5 mm	3,375 mm
3) " " " g.	3,5 "	2,5 "	2,5 "	3 "	2,875 "
4) Largeur des 2 lobes et de l'isthme	7 "	7 "	7,5 "	9 "	7,625 "
5) Epaisseur du lobe dr.	4 "	4 "	4,5 "	5,5 "	4,5 "
6) " " " g.	3,5 "	4 "	4 "	5 "	4,125 "
7) Hauteur du lobe dr.	9 "	11,5 "	8,5 "	10 "	9,75 "
8) " " " g.	8,5 "	11 "	9,5 "	10 "	9,75 "
9) Moyenne 7 et 8 × 4	61,25	78,75	67,5	90	74,375
10) " 5 et 6 × 9	239,69	315,00	286,875	472.5	328,50

Discussion des résultats.

Il ressort des tableaux et des observations ci-dessus que:

1) le poids moyen des rats alimentés avec de l'eau bouillie ou de l'eau de Lausanne ordinaire est plus élevé que celui des rats recevant pour boisson de l'eau bouillie passée ensuite à travers des matières fécales humaines.

2) les rats de ce dernier groupe présentèrent plusieurs fois des rates agrandies.

3) les corps thyroïdes des rats des 1ers groupes buvant de l'eau de Lausanne cuite sont nettement moins volumineux que ceux des deux autres groupes; leur surface est lisse.

4) les corps thyroïdes des rats alimentés avec de l'eau de Lausanne bouillie puis passée à travers des matières fécales sont les plus volumineux; ils présentent une surface irrégulière et en général des nodules.

5) les corps thyroïdes des rats alimentés avec de l'eau de Lausanne ordinaire sont nettement plus volumineux que ceux des rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie et moins volumineux que ceux recevant pour boisson de l'eau bouillie passée ensuite à travers des matières fécales humaines. Ils ne présentaient pas de nodules, exceptés les Nos. 7 et 9 de la 1ère série.

En calculant approximativement la surface (largeur des lobes et de l'isthme multipliée par la hauteur moyenne des lobes) et le volume (surface multipliée par l'épaisseur moyenne des lobes) des glandes thyroïdes on obtient les proportions moyennes suivantes:

	Surface		
	1ère série	2ème série	3ème série
1er groupe	47,125	48,7	36,41
2ème „	129,25	86,33	81,35
3ème „	125,37	73,91	74,66

	Volume		
	1ère série	2ème série	3ème série
1er groupe	108,06	175,075	98,69
2ème „	800,37	404,44	347,66
3ème „	751,75	308,13	328,375

Ces chiffres confirment entièrement les observations 3, 4 et 5 ci-dessus.

Ces résultats démontrent sans aucun doute:

a) que les rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie ont des thyroïdes moins volumineuses que ceux buvant de l'eau de Lausanne non bouillie.

b) que les rats buvant de l'eau de Lausanne bouillie passée ensuite à travers des matières fécales humaines ont acquis des glandes thyroïdes hypertrophiées et présentaient des surfaces irrégulières avec de véritables nodules.

Il s'agit dans ce dernier cas d'une production expérimentale de goitres ou en tout cas d'hypertrophies de thyroïdes obtenues expérimentalement. Comme volume ces thyroïdes correspondent assez bien à celles des rats blancs que j'avais alimentés avec de l'eau de Payerne[1]).

Quant aux dimensions des glandes thyroïdes des rats alimentés avec de l'eau de Lausanne, qui sont nettement plus grandes que celles des rats buvant la même eau bouillie, elles correspondent également à celles notées lors de mes observations antérieures et à celles relevées par Grassi[2]).

Les résultats ci-dessus me paraissent particulièrement importants, car ils confirment les recherches faites antérieurement sur des animaux et sur l'homme par les auteurs que j'ai cités au début de ce mémoire.

Ils confirment le fait que l'eau peut être le vecteur de l'agent du goitre, sans cependant mettre en évidence quel est cet agent qui me paraît pouvoir être constitué soit par la flore microbienne se trouvant dans l'eau infectée, puis par la flore intestinale, soit par les toxines qu'elle produirait, ou soit que, comme Mc Carrison[3]), Klinger[4]) et divers auteurs américains le pensent, théorie à laquelle je pourrais souscrire, une flore intestinale particulière ou exagérée lors de stase intestinale, par exemple, pourrait s'emparer et par suite priver l'organisme de la petite quantité d'iode nécessaire. Ou s'agit-il, comme le pense Harries[5]), d'une modification de la flore intestinale qui troublerait la décomposition du tryptophane en indol et scatol dans l'intestin, ce qui pourrait avoir un retentissement sur le corps thyroïde, Ken-

1) Travail cité.
2) Travail cité.
3) Med. Journ. London. 1922. p. 188.
4) Corr.-Bl. f. schw. Aerzte. 1919. No. 17; Schw. med. Wochenschr. 1921. No. 1.
5) Brit. med. Journ. 1923. 31 mars.

dall[1]) ayant montré que la thyroxine, principe actif de la sécrétion thyroïdienne, était un dérivé iodé du tryptophane?

Il n'est pas possible, pour le moment, de se déterminer pour l'une ou pour l'autre des formes de la théorie infectieuse; d'ailleurs l'infection intestinale, sûrement la plus importante, n'est probablement pas la seule, car les observations de Grassi[2]), Taussig[3]), Kutschera[4]), Hirschfeld et Klinger[5]) et Langhans et Wegelin[6]) démontrent que l'infection peut aussi être réalisée en dehors de la voie hydrique. Pour B. Galli-Valerio[7]) la possibilité d'infection peut avoir lieu aussi par les aliments ou par contagion de la même façon qu'on observe dans d'autres maladies hydriques, comme la typhoïde et le choléra, par exemple.

Les nouveaux résultats que je viens de décrire confirment toute la série de mes travaux et observations antérieures[8]) relatives à la fréquence du goitre dans les régions alimentées au moyen d'eau souillée et d'origine superficielle, relatives au traitement du goitre par la désinfection intestinale continue, observations identiques à celles de MacCarrison[9]) et relatives aussi à la constipation thyroïdienne[10]); ils sont surtout en contradiction nette avec la théorie de la carence iodée, car les rats expérimentés ont reçu exactement la même nourriture et par suite la même quantité d'iode; ils ont aussi été alimentés avec la même eau, sauf qu'elle était soit naturelle, soit bouillie, soit passée à travers des matières fécales après cuisson, ce qui ne doit pas modifier la quantité d'iode qu'elle pouvait contenir.

J'ai déjà fait ressortir dans diverses notices combien cette théorie me paraissait peu certaine et j'ai cité une série d'observations qui sont en contradiction avec elle; j'écrivais en effet, en 1922[11]): „l'observation que j'ai eu l'occasion de faire[12]) d'une fréquence totalement diverse du goître dans des villages voisins dont les habitants ont les mêmes coutumes et la même alimentation, la diminution de la fréquence[13]), voire même la disparition[14]) du goître dans diverses régions ensuite de simple amélioration du captage des eaux alimentaires sont des faits en contradiction avec la théorie de l'absence ou de l'insuffisance d'iode."

---

1) Cité d'après Coulaud, Rev. d'hyg. 1925. p. 21.

2) Grassi, B., Sulla etiologia del gozzimo. Roma 1914. — Grassi e Munaron, Rendiconti d. R. Accad. dei Lincei. 1903. Vol 7; 1904. Vol. 3; 1904. Vol. 14. — Grassi e Miraldi, Annali d'Ig. sper. Vol. 25. 1915. p. 321.

3) Taussig, S., Kropf und Kretinismus. Eine epidemiologische Studie. Jena 1912.

4) Med. Blätt. Wien. Bd. 32. 1909. S. 556, 557. 587.; Wien. klin. Wochenschr. Bd. 33. 1910. S. 1593.

5) Arch. f. Hyg. Bd. 85. S. 139; Bd. 86. S. 212.

6) Langhans, Th., u. Wegelin, C., Der Kropf der weißen Ratte. Bern 1919.

7) Corresp.-Blatt f. schweiz. Aerzte. 1918. No. 18.

8) Voir Schw. med. Wochenschr. 1922. No. 25 et 26.

9) Ouvrage cité.

10) Rev. Suisse de Méd. 1922. No. 3.

11) Schw. med. Wochenschr. 1922. S. 6.

12) Rev. Méd. de la Suisse. Rom. 1922. No. 1.

13) Messerli, Fr., Le goître endémique. Lausanne 1916. p. 41; Thèse de Doctorat. 1913. p. 65—67.

14) Bérard, L., Corps thyroïde. Paris 1908. p. 135—137. — Galli-Valerio. B., Biblioth. Univers. 1923. p. 162.

Depuis, lors d'une enquête sur la fréquence du goitre dans le Bas-Valais[1]), il m'a été encore possible de constater une proportion très différente de recrues goitreuses entre des villages très voisins et dont les habitants présentent exactement les mêmes conditions d'alimentation, de vie, etc. . . .; les exemples suivants sont typiques:

Commune		Altitude		
Commune de la Batiaz,	altitude moyenne	462 m,	19 %	de recrues goîtreuses
„ „ Martigny-Ville	„ „	476 „	12,7 „	
„ „ Martigny-Bourg	„ „	495 „	8,4 „	
„ „ Martigny-Combe	„ „	variant de 509 à 1530 m,	5,9 „	

Les villages de Riddes et d'Isérables sont séparés à peine par 2 kms. de distance en ligne droite:

Riddes	altitude moyenne	492 m,	7,4 %	de recrues goîtreuses
Isérables	„ „	1116 „	4,2 „	„ „ „

et ceux de Sembrancher et de Vollèges ne sont distants que de $1^1/_2$ km:

Sembrancher	altitude moyenne	720 m,	11,3 %	de recrues goîtreuses
Vollèges	„ „	835 à 1340 m	6,4 „	„ „ „

Une récente publication de A. Borrel, L. Boez et Freysz[2]) signalant que le goitre endémique est extrêmement répandu parmi les habitants de la commune de Robertsau, située aux portes de Strasbourg, où l'endémie ne règne pas, est en contradiction absolue avec la théorie de la carence iodée, les habitants des deux communes contigues se trouvant dans les mêmes conditions.

D'autre part les observations de Grassi[3]) et Munaron[4]) et Miraldi[5]), qui constatèrent que des rats provenant de Rome placés dans une zone à endémie acquéraient des goitres quoique alimentés avec de l'eau et avec du pain envoyés de Rome où ne règne pas le goître, sont également en contradiction absolue avec la théorie de l'insuffisance de l'iode.

Je rappellerai encore les intéressantes recherches de Gaylord et de Plehn[6]) sur les épidémies de goître chez les saumons et celles de Marine[7]) sur le goitre des truites; ces auteurs ont trouvé un nombre croissant de poissons goitreux dans une série d'étangs voisins qu'un cours d'eau traversait successivement; ils ont en outre observé qu'après adjonction d'antiseptiques à l'eau des étangs, il se produisait „une lente et certaine régression des goitres chez les poissons des différents étangs". Ces importantes constatations sont en contradiction avec la théorie de la carence de l'iode et sont une preuve de plus en faveur de l'infection des eaux.

Comme le Prof. B. Galli-Valerio, j'ai toujours admis que l'iode contrariait l'endémie goitreuse sans la supprimer entièrement; il agit comme un agent neutralisant et le fait d'adopter cet agent comme médication prophylactique ne résout pas le problème de l'étiologie ni de la suppression de la cause de l'endémie.

---

1) Rev. Suisse d'Hyg. Vol. 3. 1923.
2) Compt. rend. Soc. de Biol. T. 92. 1925. p. 232 et 234.
3) Ouvrage cité.
4) Ouvrage cité.
5) Ouvrage cité.
6) Gaylord et Plehn, M., Ueber Geschwülste bei niederen Wirbeltieren. Trav. de la 2. confér. intern. pour l'étude du cancer. Paris 1910. p. 787. — Plehn, M., Wien. klin. Wochenschr. Bd. 19. 1912.
7) Journ. Expér. médic. T. 19. p. 376.

Il serait intéressant de faire de nouvelles recherches telles celles que je viens de relater, complétées encore, par exemple, par le traitement prophylactique à l'iode d'une partie des animaux soumis à l'alimentation par eau infectée. Je me propose de les entreprendre le plus tôt possible; elles ne feront que confirmer ce que nous connaissons déjà avec assez de précision, à savoir que l'iode empêche le développement du goitre chez l'homme, chose qui a encore été mise en évidence ces derniers temps par de nombreux auteurs, et que Sasaki[1]) et Wegelin[2]) ont confirmé en ce qui concerne le goitre chez le rat.

Conclusions.

Je concluerai et résumerai cette notice en relevant que les recherches décrites ci-dessus m'ont permis:

1⁰ de provoquer des goitres expérimentaux chez des rats blancs alimentés au moyen d'eau cuite passée ensuite à travers des matières fécales humaines, et

2⁰ de faire ressortir que l'eau peut être un des vecteurs de l'agent du goitre.

Qu'il me soit permis d'exprimer encore ici ma vive reconnaissance à Mr. le Prof. Galli-Valerio pour ses précieux conseils et pour le patronage de ces recherches exécutées dans son Institut.

Expériences faites de juin 1923 à novembre 1924.
Rédaction automne 1925.

Geflügelpockenkörperchen und Guarnierische Körperchen.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie in Bern (Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

Von Dr. **T. Saito**, Niigata (Japan).

Solange Säugetierpocken und Geflügelpocken trotz aller Verwandtschaft als durchaus verschiedene und voneinander unabhängige Krankheiten galten, war es leicht verständlich und von geringer Bedeutung, daß auch die bei diesen Affektionen in den Epithelzellen auftretenden Protoplasmaeinschlüsse, die Guarnierischen Körperchen („G. K.") bei den Säugetierpocken und die Geflügelpockenkörperchen („Gefl. K"), verschieden sind. Seitdem sich jedoch herausgestellt hat, daß Geflügel- und Säugetierpocken, so tiefgreifend die Unterschiede zwischen ihnen sind, doch einander viel näher stehen, als man angenommen hatte, so daß die Ueberführung der Geflügelpocken in Säugetierpocken gelingt (van Heelsbergen; Toyoda; Loewenthal, Kadowaki und Kondo), seitdem gewinnt auch die Verschiedenheit der charakteristischen Protoplasmaeinschlüsse erneute Bedeutung. Denn es hängt damit die Frage zusammen, ob in dem abweichenden Verhalten der Zellein-

---

1) Dtsch. Zeitschr. f. Cirurg. Bd. 119. 1912.
2) Ouvrage cité.

schlüsse eine Aenderung der Eigenschaften des Virus oder nur die Verschiedenheit des Substrates (Säugetier — Geflügel) zum Ausdruck kommt.

Den Unterschieden zwischen G.K. und Gefl.K. in bezug auf Größenverhältnisse, Gestalt und Struktur braucht man vielleicht keine allzu große grundsätzliche Bedeutung beizumessen; wichtiger erscheinen mir die Unterschiede des **chemischen** Baues, die sich im färberischen Verhalten zeigen. Die Gefl.K. sind ausgesprochen eosinophil, was die G.K. nicht sind, denen im Gegenteil sogar eine besondere Affinität zu Kernfarbstoffen zugeschrieben wurde. Auf welchem Stoff die Eosinophilie beruht, ist bisher wohl nicht bekannt, so daß die Tatsache als solche ohne weitere Erörterungen registriert sei. Ferner sind die Gefl.K. fetthaltig, die G.K. aber nicht. Lucksch freilich schreibt den G.K. (ebenso wie den Negrischen und den Herpes-Körperchen) Lipoidnatur zu, was ja nicht dasselbe ist wie Fettgehalt; seine Darlegungen erscheinen aber nicht recht beweisend. Schütz hat vor kurzem die G.K. mit modernen zytologischen Methoden untersucht und unter anderem auch Osmiumgemische verwendet; eine Bräunung oder Schwärzung der G.K., die auf Fettgehalt schließen ließe, erwähnt er nicht, und er hat laut mündlicher Mitteilung auch nichts derartiges beobachtet.

Der Fettgehalt der Gefl. K. ist schon lange bekannt, schon L. Pfeiffer (1889) gibt an, daß sie sich mit Osmiumsäure schwärzen. Die Tatsache scheint dann in Vergessenheit geraten zu sein, und erst seitdem L. Michaelis (1903) auf Grund einer Mitteilung von Benda dem Gegenstand eine ausführliche Untersuchung gewidmet hat, ist es eine allgemeine Kenntnis, daß die Gefl.K. regelmäßig Fett enthalten. Michaelis brachte anscheinend diese merkwürdige Eigenschaft der Gefl.K. mit dem Substrat in Zusammenhang, indem er auf den starken Fettgehalt der Epidermiszellen des Geflügels hinwies.

Da die Kuhpocken auf das Huhn mit Sicherheit überimpfbar sind, scheint die Frage, ob der Fettgehalt der Gefl.K. auf den Eigenschaften des Erregers oder des Wirtsgewebes beruht, leicht in der Weise entscheidbar, daß man prüft, ob auch die G.K. in der Haut des vakzinierten Huhnes Fett enthalten oder nicht. Dieser Weg ist aber nicht gangbar, denn Kadowaki hat gezeigt, daß die Vakzine beim Huhn überhaupt ohne Bildung von G.K. verläuft. Auch der umgekehrte Weg, Uebertragung von Geflügelpocken auf das Kaninchen, führt nicht zum Ziel, da Geflügelpocke (Taubenpocke) auf der Hornhaut des Kaninchens keine Zelleinschlüsse hervorruft (Kadowaki) und auf der Haut in den ersten Generationen nur ganz uncharakteristische Reizerscheinungen erzeugt (Kondo, Lusena); und eine Untersuchung etwaiger Zelleinschlüsse späterer Impfgenerationen mit stärkerer Reaktion würde nichts beweisen, da das Virus dann schon im Begriff sein kann, die Eigenschaften der Lapine anzunehmen. Toyoda freilich hat bei Uebertragung von Geflügelpocken auf das Kaninchen schon in der ersten Generation „einzelne sichere G.K.“ gesehen. Abgesehen davon, daß der Ausdruck „einzelne sichere G.K.“ eine Contradictio in adjecto ist, da wiederholt betont worden ist, daß vereinzelte Einschlüsse nicht mit Sicherheit als G.K. erkannt werden können, sind Toyodas an sich sehr wichtige Untersuchungen in dem hier interessierenden Zusammenhang nicht verwertbar; denn er macht keinen Unterschied zwischen G.K. und Gefl.K. und registriert auch die Zelleinschlüsse der Geflügelpocke beim Huhn als „typische G.K.“. Mangels jeglicher Beschreibung ist also nicht ersichtlich, ob Toyodas Einschlüsse bei Verimpfung

von Geflügelpocken auf das Kaninchen die Eigenschaften der G.K. oder der Gefl.K. hatten.

Es bleibt somit nur der Ausweg, den Fettgehalt der Gefl.K. zu prüfen in einem Gewebe des Geflügels, dem wohl kaum ein besonderer Reichtum an Fett oder Talg nachgesagt werden kann, auf der Cornea. Alle Autoren außer Loewenthal, die Geflügelpocken auf die Hornhaut zu übertragen versuchten, berichten von positiven Impferfolgen, die Affektion entspricht der auf der Haut. Auch auf der Cornea handelt es sich nach Stargardts Zählungen, entsprechend Loewenthals Angaben für die Pocken der Lider, nicht um eine Zellvermehrung, sondern um eine Zellvergrößerung, und es werden die typischen Einschlüsse gebildet, die sich nach Carnoy-Fixierung und Giemsa-Färbung ebenso wie die der Haut als aus kleinsten Körnchen aufgebaut erweisen (Stargardt). Merkwürdigerweise habe ich aber in der Literatur keinen Hinweis gefunden, ob die Gefl.K. in der Hornhaut fetthaltig sind oder nicht.

Diese Lücke habe ich auszufüllen gesucht. Ich habe eine Anzahl Tauben auf die kokainisierte und skarifizierte Cornea mit Emulsion von Taubenpocke geimpft und mich davon überzeugt, daß auch der von mir benutzte Stamm van Heelsbergen sich auf die Cornea übertragen läßt. Die Impfstriche werden nach einigen Tagen grauweiß, die Cornea wird matt, hauch- oder wolkenartig getrübt, es kann sich eine ausgesprochene Kerato-Conjunctivitis entwickeln und nicht selten schließt sich Bildung von Pockenknötchen auf der Lidhaut an. Am deutlichsten werden die Erscheinungen erst 10—12 und mehr Tage nach der Impfung. In gleicher Weise mit steriler Bouillon ausgeführte Kontrollimpfungen haben gezeigt, daß die grauweiße Verfärbung der Impfritzer keine spezifische Veränderung ist, sondern auf der Impfverletzung an sich beruht.

Dem anatomischen Bild der Geflügelpocke auf der Taubenhornhaut habe ich nichts wesentlich Neues hinzuzufügen, außer etwa einer Tatsache: ich habe Gefl.K. im Corneaepithel zu den verschiedensten Zeiten (6—20 Tage) nach der Impfung nachweisen können; andererseits habe ich gelegentlich in der Cornea 9 und 12 Tage nach der Impfung wohl Vergrößerung und Vakuolisierung der Epithelzellen gesehen mit unregelmäßiger Lagerung der Zellen und Epithelverdickung, ohne daß es mir aber gelungen wäre, im Schnittpräparat Gefl.K. zu finden. Die Einschlüsse treten im Corneaepithel also weniger regelmäßig auf, als in der Epidermis. Ich kann bestätigen, daß nach Sublimatfixierung die Gefl.K. im Corneaepithel morphologisch und färberish dasselbe Bild bieten, wie wir es von denen in der Epidermis kennen.

Für die uns hier interessierende Frage, für den Fettnachweis, habe ich Fixierung mit Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch angewendet mit nachfolgender Paraffineinbettung. In einer normalen, nur steril geritzten Taubencornea konnte ich auf diese Weise kein geschwärztes oder gebräuntes Fett finden, weder im Epithel noch in der Substantia propria; es wurde also die Voraussetzung bestätigt, daß bei der Taube die Cornea kein durch Osmiumsäure nachweisbares Fett enthält. Anders die pockenkranken Corneae. Hier war, auch wenn Gefl.K. nicht auffindbar waren, in der Substantia propria Fett in feinsten schwarzen Körnchen vorhanden, und zwar sowohl frei in den Lymphspalten wie auch in den langgestreckten Wanderzellen; die Epithelzellen in den nicht erkrankten Gebieten erwiesen sich als frei von Fett. An den kranken Stellen waren in einem Teil der Epithel-

zellen schwarze bis braune Partikelchen verschiedenster Größe wahrnehmbar, nur die Basalschicht war regelmäßig fettfrei. Bei den kleinsten Körnchen war es zweifelhaft, ob man sie als Gefl.K. ansprechen dürfte, ganz wie es im Epithel der pockenkranken Haut bei Fettfärbung begegnet. Die größeren Fetteilchen entsprachen in ihrem gesamten Habitus durchaus dem, wie sich die Gefl.K. in der Epidermis bei gleicher Behandlung darstellen, so daß an ihrer Natur kein Zweifel war. Ganz entsprechend sind die Ergebnisse nach Formolfixierung an Gefrierschnitten bei Fettfärbung mit Sudan.

Also unabhängig davon, ob die Wirtszellen fetthaltig sind (Epidermiszellen der Taube) oder fettfrei (Corneaepithel), enthalten die Gefl.K. durch Osmiumsäure sich schwärzendes und mit Sudan färbbares Fett. Der Fettgehalt der Gefl.K. beruht daher nicht auf dem besonderen Fettgehalt des Substrates, sondern auf der Fähigkeit des Geflügelpockenvirus, die Bildung fetthaltiger Zelleinschlüsse hervorzurufen. Wenn unter ähnlichen Bedingungen die G.K. nicht fetthaltig sind, so zeigt sich hierin ein vom Substrat unabhängiger Unterschied der Erreger: dem Vakzinevirus fehlt eine physiologische Fähigkeit, die das Geflügelpockenvirus besitzt. In bezug auf diese Fähigkeit stellt also das Vakzinevirus eine Verlustvariante des Geflügelpockenvirus dar. Diese Feststellung rückt die Tatsache in eine neue Beleuchtung, daß man wohl schon einige Male das Geflügelpockenvirus die Eigenschaften von Säugetierpocken hat annehmen sehen, während das Gegenstück, Ueberführung von Säugetierpocken in Geflügelpocken, bisher nicht einwandfrei gelungen ist.

Neue Erfahrungen bei der Schutzimpfung gegen Lyssa durch das ätherisierte „Virus fixe".

[Aus dem Epidemiologischen Institut in Niš, S.H.S.]

Von Dr. **G. P. Alivisatos.**

In einer früheren Mitteilung (Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 9) hatte ich auseinandergesetzt, daß die gewöhnlichen Methoden der Schutzimpfung gegen Tollwut bei uns in Serbien nicht ausreichen konnten, um eine feste Immunität gegen diese Krankheit zu verleihen. So wurden 1919 und Anfang 1920 424 Patienten, davon 89 Schwergebissene, mit einer sehr verstärkten Högyeschen Dilutionsmethode (Dilution 1:100 vom 4. Tage an, Behandlungsdauer bis zu 27 Tagen) behandelt, und doch hatten wir acht Todesfälle, teils während, teils nach der Behandlung zu beklagen.

Das eingehende Studium über die Ursache dieser Mißerfolge führte uns zu dem Schlusse, daß es sich bei uns in Serbien um ganz andere Verhältnisse als in anderen Ländern handelt.

Erstens besteht eine schwere Wutepizootie unter den Hunden, welche einesteils eine Folge der in unseren Gebirgsgegenden noch sehr zahlreich auftretenden wutkranken Wölfen ist. Eine große An-

zahl von vagabundierenden Hunden andernteils, sowie die sehr schlechten veterinärpolizeilichen Maßnahmen, die wegen der lokalen Verhältnisse in ausreichendem Maße nicht streng genug durchgeführt werden können, machen es erklärlich, daß der Verbreitung der Wut nichts im Wege steht und dieselbe als Epizootie unter den Hunden herrscht.

Die Epizootie macht das häufige Auftreten der Wut auch bei anderen Haustieren erklärlich, so daß dieselben für den Menschen oftmals aggressiv sind, welche Tatsache aus der folgenden Tabelle klar zu ersehen ist.

Tabelle I[1]).

Von verschiedenen Tieren gebissene und zur Behandlung angemeldete Personen.

Jahr	von Hunden	von Wölfen	von Katzen	von Rindern	von Schweinen	von Pferden	von Schafen	von Ziegen	von Eseln
1921	1885	33	49	38	10	6	1	—	—
1922	1763	11	87	33	12	2	—	—	—
1923	1340	11	40	75	7	1	1	2	1
1924	1002	10	53	14	6	—	—	—	1

Anmerkung: 1) Die Wut ist in der Mehrzahl der Fälle, außer Hunden und Wölfen, auch bei den anderen Tieren entweder bei uns im Institut oder von Veterinärärzten konstatiert worden. — 2) Die von Jahr zu Jahr beobachtete Abnahme der Zahl der Gebissenen ist nur auf die Errichtung neuer Wutstationen in anderen Instituten zurückzuführen; dagegen ist das Verhältnis zwischen den von Hunden und anderen Tieren Gebissenen fast dasselbe geblieben, ein Beweis, daß sich die Verhältnisse nicht geändert haben.

Außerdem wurde bei uns das sehr häufige Auftreten eines hochvirulenten Straßenvirus bei den Hunden beobachtet. Die Tabelle II bringt die Inkubationsdauer der Wut bei Kaninchen desselben Gewichtes, welche unter ganz gleichen Bedingungen mit „Straßenvirus“ von wutkranken Tieren infiziert waren. (Die Kaninchen bekamen intramuskulär in die Nackenmuskulatur 1 ccm einer 1:20 verdünnten Emulsion, bereitet aus abgewogener Marksubstanz (Frontalabschnitt) des zur Untersuchung geschickten Kopfes. Unter solchen Umständen sind die Resultate gut vergleichbar, es können nur die individuelle Rezeptivität des Kaninchens und das Stadium der Wuterkrankung bei dem betreffenden zur Untersuchung geschickten Tiere variieren. Aus der Tabelle kann man ersehen, daß 60 Proz. aller Tiere von einem

Tabelle II.

Jahrgang	Inkubationsdauer in Tagen				Insges.
	8—10 Tage	11—15 Tage	16—20 Tage	21—30 Tage	
1921	6 dav. 1 Katze	17 dav. {1 Katze, 1 Schwein}	13 davon 2 Katzen	7	43
1922	13	36 davon 2 Katzen	13 dav. {1 Katze, 1 Rind}	15 dav. 1 Rind	77
1923	1	21 „ 2 „	27 davon 2 Katzen	4 „ 1 „	53
1924	19 dav. 1 Katze	47 „ 2 „	15 dav. {2 Schweine, 1 Katze}	11 „ 1 Katze	92
Ges.-Zahl	39	121	68	37	265

1) Aus Raumersparnis ist eine Tabelle über die Art und Zahlenverhältnisse der beißenden Tiere weggelassen, auch sind in dieser Tabelle die von wutkranken Menschen Gebissene nicht angeführt.

solchen Virus infiziert waren, welche als „verstärktes Virus“ zu gelten hat, da dasselbe die Krankheit nach intramuskulärer Infektion an Kaninchen in der kurzen Zeit von 8—15 Tagen zum Ausdruck bringt.

Neuerdings ist das Vorhandensein eines Straßenvirus mit „erhöhter“ Virulenz für den Menschen bezweifelt worden, da die Demonstration eines solchen beim Kaninchen noch keinen Beweis bildet, daß dasselbe Virus auch für den Menschen von verstärkter Virulenz ist [Remlinger[1])].

Unsere Beobachtungen (zum Teil veröffentlicht im Glasnik M. N. Z. 1921. No. 9 [serbisch]) sprechen gerade für das Vorhandensein eines solchen verstärkten Straßenvirus, und zwar:

1) Da wir in Serbien eine Migration der Wutepizootie konstatierten, d. h. Kreise, welche das eine Jahr mit Hundeswut stark durchseucht waren, wiesen das nächste oder übernächste Jahr eine starke Verminderung der Fälle auf, wogegen die weniger durchseuchten ein starkes Anwachsen der Wutfälle zeigten. Gleich dasselbe beobachteten wir mit der Virulenz des Straßenvirus. Es wäre nun unmöglich, zu behaupten, daß solche großen Schwankungen in der Virulenz des Wuterregers bei Hunden von keiner Bedeutung für den Menschen wären, und daß der Begriff „Straßenvirus“ als wechselnde Größe nur für alle Tiere, nicht aber für den Menschen aufzufassen wäre.

2) Da wir bei den Menschen kurze Inkubationsdauer der Wut beobachtet haben, welche man allein durch die Schwere und Lage des Bisses nicht erklären konnte, sondern nur in Verbindung mit der Annahme der Existenz eines Straßenvirus mit verstärkter Virulenz.

Die Tabelle III enthält vier Fälle von Wut mit kurzer Inkubationsdauer, von denen in drei Fällen die Virulenz des betreffenden Straßenvirus an Kaninchen bestimmt wurde, da der vierte Wuterkrankte (wie die meisten Gebissenen bei uns) vom Tiere C gebissen wurde und es so unmöglich war, die Virulenz zu bestimmen.

Tabelle III.

Name und Alter	Wann gebissen	Wann zur Behandlung angekommen	Wann brach die Krankheit aus	Inkubationsdauer	Inkubationsdauer bei Kaninchen
P. K., 8 J.	13. 8. 21	.	26. 8. 21	13 Tage	**(Hund nicht zur Untersuchung geschickt). Gebissener nur beim Ausbruch der Krankheit gekommen.**
Z. J., 17 J.	8. 3. 22	14. 8. 22	24. 8. 22	16 „	**(Hund) 12 Tage**
L. M., 10 J.	13. 6. 23	18. 6. 23	23. 6. 23	10 „	**(Wolf) 10 Tage**
I. Z., 47 J.	22. 10. 23	23. 10. 23	8. 11. 23	17 „	**(Hund) 11 Tage**

Die Tabelle IV bringt zwei Fälle mit fast nicht sichtbaren Bissen, bei denen die Wut trotz der Behandlung (nach der Högyeschen Methode) ausbrach.

1) Wir sind der Meinung, daß gerade diese Experimente, welche Remlinger auf Meerschweinchen gemacht hat, teils das Gegenteil beweisen, denn schon der (für Meerschweinchen) große Unterschied in der Inkubationsdauer der Wut bei den mit normalem Straßenvirus (durchschnittlich 18 Tage) und bei den mit verstärktem Virus (durchschnittlich 12 Tage) infizierten, nicht immunen Kontrolltierchen genügt, um zu beweisen, daß ein und derselbe Straßenvirus, welcher sich für das Kaninchen als „verstärkt“ erwiesen hat, auch für das Meerschweinchen als hochvirulent gelten kann.

Tabelle IV.

Name und Alter	Gebissen am	Zur Behandlung gekommen	Art der Bisse	Behandlungsmethode	Ausbruch der Wut am
K. M., 45 J.	12. 6. 21	20. 6. 21	Gebissen am rechten Zeigefinger. Nicht sichtbar am Tage der Ankunft	Verstärkte Högyessche Methode	16. 7. 21
N. P., 7 J.	4. 8. 23	5. 8. 23	Am rechten Fuß minimal gekratzt	dgl.	25.12.23

3) Wir haben Fälle beobachtet, wo die Wut bei am selben Tage und vom selben Tier gebissenen Menschen und Tieren fast gleichzeitig zeitig ausbrach. So biß im April 1925 ein Wolf 8 Personen, 6 Kühe, einen Ochsen, 2 Pferde und einige Ziegen und Schafe am Kopf oder Maul. Von den 8 Personen erkrankten während der Behandlung am 16.—17. Tage zwei, und zwar nicht die am schwersten Gebissenen; von den Tieren erkrankten drei Kühe zwischen 16. und 17. Tage, ein Pferd am 12. Tage, das andere am 17. Tage, die Ziegen und Schafe zwischen 14. und 15. Tage nach dem Bisse. (Die Tiere sind nicht behandelt worden.)

Als ein weiteres Argument dafür, daß auch für den Menschen ein Straßenvirus mit verstärkter Virulenz existiert, führen wir noch folgende zwei Tabellen an.

Die Tabelle V bringt die Inkubationsdauer bei gebissenen Leuten, welche während oder nach der Behandlung an Tollwut erkrankten. Aus derselben geht klar hervor, daß bei uns — unabhängig von der Behandlungsmethode (Högyes oder ätherisierter Impfstoff) — sehr kurze Wutinkubationen häufig, nicht nur bei Wolfs-, sondern auch bei Hundebissen vorkommen.

Tabelle V.

Laufende Nr.	Name und Alter	Wieviel Tage nach dem Bisse zur Behandlung angekommen	Wieviel Tage nach Beginn der Behandlung brach die Krankheit aus	Inkubationsdauer	Bemerkungen
1	B. P., 9 J.	17	199	216 Tg.	Vom Hund gebissen, nach verstärkter Högyesmethode behandelt
2	G. J.[1]), 37 J.	3	38	41 „	dgl.
3	J. S.[1]), 33 J.	6	32	38 „	„
4	D. K., 14 J.	7	20	27 „	„
5	D. N., 14 J.	8	19	27 „	„
6	Z. P.[2]), 18 J.	6	18	24 „	„
7	Z. M.[1]), 7 J.	7	17	24 „	„
8	K. K., 33 J.	9	22	31 „	„
9	K. M., 45 J.	8	26	34 „	„
10	N. P., 7 J.	1	142	143 „	„
11	K. S.[2]), 13 J.	2	23	25 „	Vom Hund gebissen, nach Högyes und mit sehr kleinen Mengen ätherisierten Virus behandelt
12	S. I.[2]), 14 J.	3	20	23 „	dgl.
13	D. I.[1]), 46 J.	8	29	37 „	„

1) Bedeutet ziemlich schwer gebissen; 2) sehr schwer gebissen.

Laufende Nr.	Name und Alter	Wieviel Tage nach dem Bisse zur Behandlung angekommen	Wieviel Tage nach Beginn der Behandlung brach die Krankheit aus	Inkubationsdauer	Bemerkungen
14	P. M.[2]), 56 J.	28	7	35 Tg.	Vom Hund gebissen, nach Högyes u. mit Aetherimpfstoff behandelt
15	N. A.[2]), 22 J.	3	16	19 „	dgl.
16	M. B.[2]), 45 J.	9	13	22 „	„
17	S. P.[2]), 45 J.	30	13	43 „	„
18	D. I.[2]), 18 J.	4	14	18 „	„
19	Z. J.[2]), 7 J.	6	10	16 „	„
20	D. M.[2]), 36 J.	9	19	28 „	„
21	M. M.[2]), 65 J.	21	13	34 „	„
22	I. Z.[2]), 47 J.	1	16	17 „	„
23	D. M.[1]), 50 J.	1	22	23 „	„
24	R. S.[2]), 60 J.	14	17	31 „	Vom Wolf gebissen, nach Högyes (wie oben) und mit sehr kleinen Mengen ätherisierten Impfstoffes behandelt
25	N. V.[3]), 56 J.	2	16	18 „	Vom Wolf gebissen, nach Högyes u. mit Aetherimpfstoff behandelt
26	M. T.[3]), 16 J.	2	15	17 „	dgl.
27	J. R.[3]), 13 J.	2	16	18 „	„
28	N. V.[2]), 27 J.	3	22	25 „	„
29	A. D.[3]), 52 J.	4	14	18 „	„
30	K. P.[3]), 60 J.	4	15	19 „	„
31	T. V.[3]), 18 J.	6	6	12 „	„
32	L. M.[2]), 10 J.	5	5	10 „	„
33	A. R., 65 J.	5	23	28 „	„ Weil nicht zu stark gebissen, nur mit 60 ccm Aetherimpfstoff geimpft

Tabelle VI gibt Aufschluß über die Inkubationsdauer bei **nicht** behandelten Gebissenen, welche erst nach dem Ausbruch der Krankheit dem Institute überwiesen wurden. Auch hier findet man die in der Tabelle V erwähnte Tatsache bestätigt.

Tabelle VI.

Lfde. Nr.	Name	Alter	Inkubationsdauer	Bemerkungen
1	S. D.	13	42 Tage	Vom Hunde sehr leicht gebissen
2	S. I.	27	66 „	„ „ „ „ „
3	T. M.	12	41 „	„ „ „ „ „
4	M. V.	23	31 „	„ „ „ „ „
5	P. K.[4])	8	13 „	„ „ an den Lippen gebissen
6	A. T.	27	65 „	„ „ sehr leicht gebissen
7	D. M.	19	81 „	„ „ nur gekratzt
8	R. S.	6	35 „	„ „ leicht gebissen
9	I. V.[5])	20	29 „	„ „ am Augenlid gebissen
10	T. S.	17	43 „	„ „ sehr leicht gebissen
11	D. V.	35	35 „	„ „ „ „ „
12	D. Z.	7	37 „	„ „ an der Hand leicht gebissen
13	T. S.	10	31 „	Von der Katze am Zeigefinger gebissen

1) Bedeutet ziemlich schwer gebissen; 2) sehr schwer gebissen; 3) die Bisse sind von außerordentlicher Schwere; 4) sehr schwer gebissen, 5) ziemlich schwer gebissen.

Wir glauben, daß die angeführten Argumente genügend sind, um den Beweis zu erbringen, daß für den Menschen ein Straßenvirus mit „verstärkter Virulenz“ existiert, und, da das Vorhandensein eines solchen Virus gleichzeitig und in denselben Ortschaften für das Kaninchen bewiesen wurde, meinen wir, daß die Inkubationsdauer der Wut an mit Straßenvirus infizierten Kaninchen in der Mehrzahl der Fälle einen guten Hinweis für die Stärke der Infektion des Menschen bildet.

Es ist nun erklärlich, daß unter disen Umständen — Wutepizootie bei Hunden mit verstärkter Virulenz des Straßenvirus und häufigen Wolfsbissen — die Dilutionsmethode nach Högyes viele Mißerfolge gab, und daß man gezwungen war, nach einer neuen Methode zu suchen, welche schneller und fester immunisieren konnte.

Da nun bekanntlich die Wut nach dem Kriege sehr stark zugenommen hat und dabei sehr viele Institute die Erfahrung gemacht haben, daß die geläufigen Methoden bei den neuen Zuständen nicht ausreichen, um sicher vor der Wut zu schützen, so dürfte es von Interesse sein, über die Richtlinien, welche uns bei der Ausarbeitung einer neuen Methode geleitet haben, kurz zu berichten.

Daß man am besten bei der Wut, wie auch bei anderen Infektionskrankheiten, immunisiert, wenn man den vollvirulenten Impfstoff anwendet, ist eine längst bekannte Tatsache. Solange aber die Pathogenie der Impflähmungen nicht einmal annährend geklärt ist, und solange der restlose Beweis, daß das „Virus fixe“ in großen Mengen für den Menschen völlig unschädlich ist, nicht erbracht wird, möchte auch ich davor warnen, Methoden, welche mit hohen Dosen vollvirulenten oder wenig abgeschwächten Virus arbeiten, anzuwenden.

Wir haben z. B. 1915 in Saloniki mit einer verstärkten Pasteurschen Methode (Beginn 5tägiges Mark, schon vom 3. Tage an 3tägiges Mark, dann gleich 2- und 1tägiges Mark, so daß man mit einem Turnus 3—2—1 17—21 Tage lang behandelte) bei ca. 500 Gebissenen zwei Myelitiden und drei Mißerfolge (auch bei diesem verstärkten Virus) zu verzeichnen gehabt, ein Beweis, daß die Methode eine gefährliche zu sein scheint, ohne andererseits gute Erfolge zu geben.

Die Methoden mit hohen Dosen, etwas mehr und gleichmäßiger abgeschwächtem Virus erscheinen uns als die besten.

Die Babessche Methode (durch Wärme abgeschwächte Emulsionen), welche wegen der gleichen Verhältnisse, wie wir sie oben bei uns erwähnt haben, ausgearbeitet wurde, hätte vielleicht bei uns sehr gute Resultate gegeben, doch ist ihre Ausführung sehr kompliziert, außerdem werden oftmals bei den nach dieser Methode behandelten Leuten Myelitiden beobachtet.

Die Fermische Methode, welche besonders von Fermi viel gepriesen wurde, wendet eine Emulsion von 5 g Virus fixe in 100 ccm 1proz. Phenol-Kochsalzlösung an, der vor dem Gebrauch entsprechende Mengen (2 ccm) eines hochwertigen Lyssaimmunserums zugesetzt werden. Sie soll gewissermaßen eine Universalmethode darstellen, da sie überall, wo sie bis jetzt angewandt wurde, nach Fermis Angaben äußerst günstige Resultate ohne jegliche Mißerfolge gab.

Nach meinen und anderer Erfahrungen jedoch hängt der Erfolg jeder Immunisierungsmethode bei Wut außer von anderen individuellen Faktoren und von der Leistungsfähigkeit der Methode auch von drei sehr verschiedenartigen Faktoren ab: von der Schwere und Lage des

Bisses, von der Virulenz des Straßenvirus und von der Schnelligkeit, mit welcher sich der betreffende Mensch immunisieren läßt.

Der dritte Faktor, wie im übrigen auch der zweite — was wir schon oben dargelegt haben — wurde bis jetzt stark vernachlässigt. Wir haben z. B. festgestellt, daß oftmals von zwei Leuten, die gleichzeitig und mit gleichen Mengen Aetherimpfstoffes geimpft werden, der eine schon am 16. Tage nach Beginn der Behandlung, der andere aber erst am 22. Tage oder noch später Immunkörper in genügender Menge in seinem Serum aufweist.

Wenn man nun von einer Methode spricht, daß sie nach dem jetzigen Stande der Wissenschaft 100 Proz. Erfolge überall, wo sie auch durchgeführt wurde, gibt, so scheint es, als ob durch diese Methode die genannten Faktoren ganz ausgeglichen wären, was sicher nicht der Fall sein dürfte. Vielmehr ist anzunehmen, daß die Methode so gute Resultate gegeben hat (100 Proz. Erfolge), weil sie bis jetzt nicht gegen das verstärkte Straßenvirus zu kämpfen hatte. Nun pflegt bei Infektion mit schwächerem Straßenvirus auch die Inkubation der Wut viel länger zu sein, so daß auch jene Leute, die sich langsam und schwer immunisieren lassen, Zeit besitzen, um gegen diese Krankheit fest zu werden: auf diese Weise wirkt der Mangel eines verstärkten Straßenvirus auch auf den anderen Faktor ausgleichend.

Immerhin scheint mir die Zugabe von Immunserum, welche bei der Fermischen Methode erfolgt und welche auch von anderen (A. Marie), wenn auch in anderer Form, viel früher empfohlen wurde, vorteilhaft zu sein.

Ich werde, sobald es unsere Verhältnisse erlauben, die Herstellung des Serums und die Einverleibung mit ätherisiertem Virus versuchen, um Schwergebissene durch die passive Immunität möglichst zu schützen, bevor die aktive eingetreten ist.

Die Benutzung des karbolisierten Virus nach Fermi habe ich aber aus mehreren Gründen verworfen: 1) Das Aufbewahren des Virus fixe-Impfstoffes mit chemischen Mitteln, oder die fabrikmäßige Herstellung und der Versand eines solchen auf große Entfernungen ist bei unseren jetzigen Kenntnissen über Virus fixe, meiner Meinung nach, nicht statthaft, da es sich um ein unbekanntes, in seiner Virulenz sehr veränderliches und schon durch geringe Wirkungen sehr beeinflußbares Virus handelt. Wenn es nun Statistiken gibt, die über gute Erfolge mit solchem zugeschickten, konserviertem Impfstoffe berichten, so ist dieser Erfolg meines Erachtens nicht das Verdienst dieser Methoden, sondern das der streng durchgeführten veterinärpolizeilichen Maßnahmen gegen Hunde und wutkranke Tiere. Deswegen müßte man jedem Berichte über Erfolge dieser oder jener Methode unbedingt auch Angaben über die Schwankungen der Virulenz des in Betracht kommenden Straßenvirus anführen, da sonst der Bericht mangelhaft und deshalb ohne Wert ist.

2) Die Ausführung des Schutzimpfungsverfahrens durch den praktischen Arzt bei Versand des Impfstoffes wird die unbedingt notwendige individuelle Behandlung, wie sie in einem Pasteur-Institut geübt wird, vermissen lassen und zur Schablonisierung jeder Methode führen, was auf alle Fälle zu vermeiden ist, da die Frage der Schutzimpfung bei Lyssa bei weitem nicht reif genug ist, um eine Schablonisierung der Methode zu erlauben. Dadurch werden die Resultate der Behandlungen,

die eventuell vorgekommenen Myelitiden und wertvolle Beobachtungen meistenteils den Befugten entgehen, da der behandelnde Arzt denselben kaum Interesse zuwenden kann, von den interessierten Spezialisten aber sehr mangelhaft und selten wahrgenommen werden. Somit würde das Studium der Lyssa in seiner Kontinuität zerrissen und größtenteils Aerzten mit verschiedenartigen Beschäftigungen übergeben.

Der jetzt schon herrschende Wirrwarr, bei dem die Erfolge jeder Methode auf eine nichts zu sagende Zahl der Gebissenen prozentual ausgerechnet werden, und bei dem die Erfolge der hygienischen Maßnahmen als Impferfolge der betreffenden Methoden angesehen werden, würde sich nur vergrößern. Deshalb bin ich der Meinung, daß der Versand des Lyssaimpfstoffes noch nicht verallgemeinert werden darf, und daß er vorläufig nur dort versuchsweise geschehen darf, wo die Frage der hygienisch-prophylaktischen Maßnahmen gegen Wut restlos gelöst ist.

3) Sollte man bei jedem Impfstoffe, der mit chemischen Mitteln abgeschwächt oder abgetötet wird, besonders aber bei jenen, die sehr oft und wiederholt eingespritzt werden, das Abschwächungs- oder Abtötungsmittel nachträglich aus dem Impfstoffe entfernen (siehe meinen ätherisierten Wut- und formolisierten Typhusimpfstoff), weil man den Gebissenen auf die Dauer keine chemische Substanzen injizieren darf, und weil außerdem dieselben noch weiter auf das Virus einwirken, so daß man über den Grad der Abschwächung ganz im unklaren bleibt.

Diese Gründe führten mich dazu, verschiedene Abschwächungsmittel[1]) zu versuchen. Ich habe die Aetherbehandlung gewählt, da es sehr leicht möglich ist, den Aether nachträglich zu entfernen, und die Abschwächung mit demselben gewissermaßen gleichmäßig bleibt (sie hängt von der Größe des eingetauchten Gehirnes ab). Außerdem ist das ätherisierte Virus, wie aus Remlingers und meinen Versuchen hervorgeht, auch bei Einverleibung hoher Dosen unschädlich und verleiht sichere Immunität gegen Wut, wie die spätere Anwendung desselben bei Menschen diese Versuche in vollem Maße bestätigt hat.

Im folgenden werden wir über neue Versuche mit ätherisiertem Virus und einigen Modifikationen in seiner Anwendungsart, sowie über die mit denselben erhaltenen Erfolge und Mißerfolge kurz berichten.

1) Von zwei während 72 Std. in Aether eingetauchten Gehirnen „Virus fixe" schwächte sich das kleinere etwas stärker ab, was darauf beruhen kann, daß die Wirkung des Aethers von der Dicke der grauen Substanz abhängt. Die in dieser Richtung mit unseren Virus fixe gemachten Versuche haben gezeigt, daß die oberste freiliegende Schicht der grauen Substanz nach 72stünd. Eintauchen fast ganz avirulent ist (bei 11 im Jahre 1923 gemachten Versuchen waren 9 negativ). Dagegen behielt die innere, an die weiße Substanz anliegende Schicht fast vollständig ihre Virulenz[2]). Freilich konnten diese Versuche nicht immer mit mathematischer Genauigkeit ausfallen, da es nicht möglich war, Schnitte von genau derselben Dicke herzustellen.

2) Infiziert man Kaninchen subdural, so daß die einen nur aus

1) Wir sind der Meinung, daß bei den jetzt bei uns obwaltenden Verhältnissen nur geschwächte, keineswegs aber abgetötete Wutimpfstoffe zur Anwendung gelangen dürfen.

2) d. h. es sind in der so bereiteten Emulsion noch solche Mengen wenig veränderten Virus vorhanden, daß die Inkubationsdauer der Wut der mit dieser Emulsion infizierten Kaninchen nur um 1—3 Tage verlängert wird.

grauer Substanz, die anderen aber aus Gesamthirnsubstanz bereitete, der Menge und Stärke nach gleiche Emulsionen von 72 Std. lang ätherisiertem Virus fixe bekommen, so zeigen sich bei den so infizierten Tieren verschieden lange Inkubationszeiten. Die mit Emulsionen der Gesamthirnsubstanz infizierten Kaninchen gingen zwischen 11. bis 14 Tage, die mit grauer Substanz infizierten dagegen gewöhnlich am 9., höchstens 10. Tage nach der Infektion zugrunde, während die mit nativem Virus fixe infizierten Kaninchen bereits am 7. oder 8. Tage der Wut erliegen. Der Grund liegt darin, daß die weiße Hirnsubstanz sehr arm an Virus ist und somit die effektive Konzentration desselben in der Emulsion vermindert.

Da diese oftmals wiederholten Versuche übereinstimmende Resultate gaben, und da, wie schon Nitsch gezeigt hat, die weiße Hirnsubstanz fast 50mal weniger virulent als die graue ist, haben wir uns entschlossen, nur die graue Substanz für die Emulsionen zu verwenden.

Wir verfahren folgendermaßen: Man eröffnet unter streng sterilen Bedingungen den Schädel von mit „Virus fixe" infizierten und einige Stunden vor dem Tode getöteten Kaninchen möglichst breit, so daß das Gehirn mit dem verlängerten Mark abgetrennt und als Ganzes und unbeschädigt herausgenommen werden kann. Nachdem das Gehirn sorgfältig von Gehirnhäuten und Gefäßen befreit ist, wird es in Aether eingetaucht und 72 Std. im Eiskasten gelassen, nach welcher Zeit das Gehirn herausgenommen wird. Die zunächst zu besprechenden Manipulationen werden in einer „Kochkammer" unter streng aseptischen Verhältnissen ausgeführt. Die Hemisphären des in eine hohe sterile Petri-Schale eingelegten Gehirnes werden mit Skalpell und Pinzette vom Hinter- und Mittelhirn getrennt, indem man dicht oberhalb der Corpora bigemina gegen die Pedunculi cerebri einschneidet. Das Mittelhirn wird nicht gebraucht, aber das Cerebellum wird so abgeschabt, daß der ganze Teil der weißen Substanz von der grauen abgetrennt wird; die letztere wird in eine andere sterile Petri-Schale gegeben. Dann trennt man die Hemisphären längs der Sagittalfurche und befreit die graue von der weißen Substanz, indem man mit scharfem Skalpell an der Trennungszone der beiden Substanzen schneidet. Diese Manipulation ist bei einiger Uebung so leicht, daß die graue Substanz wie eine Schale vom übrigen Hirn ausgeschält wird. Die Kerne werden mit der weißen Substanz entfernt. Nachdem nun dieser Teil der grauen Substanz mit jener vom Cerebellum abgeschabten eine Zeitlang gestanden hat, damit der Aether verdunstet, wird derselbe abgewogen, zerkleinert, in einer Schale zerrieben und in sterilem Salzwasser 1:75 suspendiert. Die Emulsion muß ganz fein und ohne größere Partikel sein.

Von dieser Emulsion werden bei sehr schweren Wutbissen 150 bis 170 ccm, höchstens 200 ccm (nur 16mal bis jetzt gegeben) subkutan in die Bauchgegend einverleibt, indem man den Gebissenen in einer Sitzung schadlos bis zu 30 ccm injiziert. Es wird auch darauf geachtet, daß in den ersten 5—10 Tagen nach Beginn der Behandlung in solchen schweren Fällen 100—120 ccm gegeben werden, da, wie wir später anführen werden, die Immunisation um so eher einzutreten pflegt, je energischer und schneller hohe Dosen vom ätherisierten Virus schon von Anfang an einverleibt werden. Die noch bis zu 170 ccm übrig gebliebene Menge injiziert man in den nächsten 3—7 Tagen den Gebissenen. Die Patienten vertragen diese Dosis sehr gut ohne jede Reaktion oder Schädigung, wenn steril gearbeitet wurde.

Solche Schwergebissenen verbleiben gewöhnlich bis zu 24 Tagen im Institut; man injiziert ihnen während dieser Zeit noch bis zu 280 mg Rückenmarksubstanz, bereitet nach der Högyesschen Methode. Diese Menge wird in Dosen von 5—40 mg derart injiziert, daß nach jeder Injektion mit größeren Mengen eine Pause von 2—3 Tagen eingeschaltet wird. Die Behandlung nach Högyes wird vormittags, die mit ätherisiertem Impfstoff nachmittags ausgeführt.

Leichter Gebissenen gibt man gewöhnlich weniger als 170 ccm, je nach Lage und Schwere des Bisses, immerhin aber nicht unter 60ccm Aetherimpfstoffes, da diese Menge nach unseren Versuchen absolut notwendig ist, um eine genügend feste und schnelle Immunität zu erzielen.

Die gebissenen Personen werden 15, 18, 21, bzw. die sehr schweren Fälle 24 Tage im Institute behandelt, und es wird ihnen in dieser Zeit die entsprechende Menge der Rückenmarksubstanz (Högyes-Methode) und für jeden die noch besonders verordnete Menge Aetherimpfstoff gegeben.

Wir wollen hier noch zwei Punkte berühren. Es könnte die Behandlungszeit zu lang und die Menge des frischen und ätherisierten Virus zu groß erscheinen. Wenn man aber unsere Verhältnisse in Betracht zieht, wird man wohl verstehen, weswegen ich bis heute die äußeren Gründe so gelten ließ, daß ich die Högyes-Methode nicht verlassen habe. Obwohl meine Experimente an Tieren die Möglichkeit einer festen Schutzimpfung nur mit ätherisiertem Impfstoffe bewiesen haben, habe ich nur langsam und vorsichtig diese Methode allein bei der Schutzimpfung des Menschen versucht. Erst als eine Serie mäßig Gebissener und mit dieser Methode allein Geimpfter durch den Versuch in vitro (Serumversuch) und nach Ablauf von 6 Monaten, während welcher der Gebissene gesund blieb, sich als wirklich fest immunisiert erwies, wählte ich eine andere Serie schwerer Gebissener, und so weiter, bis ich mich endlich überzeugt hatte, daß der ätherisierte Impfstoff ohne weiteres zuverlässig ist. Schon in der ersten Zeit der Anwendung des ätherisierten Impfstoffes bin ich der Möglichkeit, die Behandlungsdauer zu verkürzen, näher getreten (Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 30. 1922. S. 435); da aber unsere Verhältnisse hinsichtlich der Tollwut sich nicht gebessert haben, und da andererseits wir fast keine Myelitiden zu beklagen hatten (siehe später einen einzigen Fall), so sah ich kein Hindernis, den ätherisierten Impfstoff mit der Högyes-Methode zu kombinieren. Hempt hat in Novi Sad eine rapide Behandlungsart mit ätherisiertem Impfstoffe ausgearbeitet und mit ihr anscheinend gute Erfolge gehabt. Immerhin meine ich, daß, bevor die Behandlungsdauer definitiv auf einige Tage verkürzt wird, man vorerst noch mehrere Fragen, so die der Pathogenesis der Myelitiden, die Frage der Zeit, die bis zum Eintritt der Immunität bei den Behandelten erforderlich ist, wenn die Menge im Zeitraume von wenigen Tagen variiert und die Zeit der Behandlung bis auf wenige Tage abgekürzt wird, zu lösen hat.

3) Der Eintritt der Immunität bei den mit ätherisiertem Impfstoff Geimpften hängt ab von der Menge des Impfstoffes und dem Zeitraum, in dem dieselbe gegeben wurde. In dieser Richtung gemachte Versuche wurden auf folgende Weise ausgeführt: a) Immunisierung nur mit Aetherimpfstoff, das Serum der Untersuchten wurde auch vor Beginn der Behandlung auf eventuelles Vorhandensein von Immunkörpern untersucht. b) Das gesamte Quantum des Impfstoffes wurde in verschiedenen Mengen zwischen 1. und 20. Tage der Behandlung verteilt. c) Die Blutentnahme der so Immunisierten erfolgte zwischen 16. und 24. Tage nach Beginn der Behandlung. Von den so gewonnenen Sera wurden abgestufte Mengen (1 ccm, 0,5 ccm, 0,1 ccm) mit je 1 ccm filtrierter Verdünnung des Virus fixe 1:100 bzw. 1:50 gemischt, 24 Std. stehen gelassen und dann Kaninchen oder Meerschweinchen subdural

eingespritzt. d) Die Beobachtungszeit der nicht eingegangenen Tiere betrug 6 Monate.

Die Versuche ergaben folgende Resultate: Geimpfte, die weniger als 50 ccm Aetherimpfstoff in den ersten 15 Tagen unter die Bauchhaut erhalten hatten, zeigten keine genügenden Mengen Immunkörper in ihrem Serum, selbst nicht am 24. Tage nach Beginn der Behandlung. Unter den Geimpften, denen 60 ccm des Aetherimpfstoffes injiziert waren, sahen wir bei jenen, welche diese Menge in einem Zeitraum von 7—10 Tagen eingespritzt erhielten, schon zwischen 16. und 20. Tage genügende Mengen Immunkörper in ihrem Serum (0,5 ccm Serum schützt manchmal sogar 0,1 ccm), während jene, welche dieselbe Menge in 16 Tagen erhalten hatten, gewöhnlich erst am 24. Tage nach Beginn der Behandlung eine genügende Menge von Schutzkörpern aufzuweisen pflegen. Die Unterschiede in dem zeitlichen Auftreten der Immunkörper im Organismus bei Gebissenen, welche die gleiche Menge zur gleichen Zeit bekommen haben, ist individueller Natur (siehe oben).

e) Bei den Geimpften, die 120 ccm Aetherimpfstoff in den ersten 10 Tagen bekommen haben, waren genügend Immunkörper (0,1 ccm Serum schützt) schon am 16. Tage nach Beginn der Behandlung nachweisbar. Wurde aber dieselbe Dosis auf 17—20 Tage verteilt, so traten sie in genügender Menge gewöhnlich erst am 21. Tage auf. Daraus ergibt sich, daß man in den ersten 10 Tagen möglichst die größere Menge des Impfstoffes einverleiben soll, wenn man ein rasches Eintreten der Immunität wünscht. Da der ätherisierte Impfstoff ganz unschädlich ist, so spricht nichts gegen dies schnelle Verfahren.

Ueber die Erfolge und Mißerfolge der Methode, über die Zahl der Gebissenen, ihre Einteilung nach Kategorien A, B, C, und die Lage des Bisses berichten die Tabellen VII, VIII, IX und X.

Tabelle VII[1]).

Behandlungsmethode	Zahl der Gebissenen 1919—24		Todesfälle bei Hundsgebissenen		Todesfälle bei Wolfsgebissenen		Gesamtzahl
	v. Hunden u. übrig. Tieren	von Wölfen	während der Behandlung	nach der Behandlung	während der Behandlung	nach der Behandlung	
I	562	0	8	2	—	—	10
II	621	3	3	0	1	0	4
III	6784	62	10	0	9	0	19
	7967	65	21	2	10	0	33

Erläuterungen der Tabelle VII: Methode I ist verstärkte Högyes-Methode, II dasselbe plus mäßige (bis 50 ccm) Mengen ätherisierten Virus, III dasselbe plus große Mengen ätherisierten Virus.

Mortalität bei Behandlungsart I Absolute 1,8 Proz., Reduzierte 0,35 Proz.
" " " II " 0,64 " " 0,0 "
" " " II bei Hundesbissen 0,48 Proz.
" " " II bei Wolfsbissen 33,0 "
" " " III Absolute 0,27 Proz., Reduzierte 0,0 Proz.
Gesamtmortalität bei Hundesbissen Absolute 0,14 " " 0,0 "
" " Wolfsbissen " 14,00 " " 0,0 "

1) Fermi schreibt in seinem Büchlein „I Metodi Fermi di Vaccinazione etc." auf S. 123 bei Erwähnung unseres Verfahrens über 11 Todesfälle bei 509 mit ätherisiertem Impfstoff geimpften. Woher diese Zahlen stammen, weiß ich nicht, da meine einzige, über die Aethermethode veröffentlichte Arbeit in der Dtsch. med. Wochenschrift. 1922. Heft 9 erschienen ist und über ganz andere Zahlen berichtet. Derselbe Autor entschuldigt sich auf S. 7 des Büchleins, Notiz 1, bei allen Autoren,

Tabelle VII ist insofern von Interesse, als sie beweist, daß bei richtiger Anwendung der Methode keine Spättode mehr auftreten, was beweist, daß die Behandelten fest immunisiert waren, und daß die Immunisation bei ihnen lange Zeit dauerte, obwohl dieselbe großen individuellen Schwankungen unterliegt.

Alle Todesfälle, wie aus der Tabelle V zu ersehen ist, sind während der Behandlung vorgekommen, und zwar vom 5. bis 23. Tage nach Beginn derselben, aber in der überwiegenden Zahl der Fälle vom 5. bis 16. Tage nach Beginn der Behandlung, d. h. in einer Zeit, wo ein großer Teil des Impfstoffes (oftmals aus äußeren Gründen) nicht einverleibt werden oder noch nicht seine immunisierende Wirkung entwickeln konnte.

Tabelle VIII.

Jahr	Gebissen von Tieren A	Gebissen von Tieren B	Gebissen von Tieren C	Gesamtzahl
1921	135	35	1852	2022
1922	164	57	1687	1908
1923	110	65	1303	1478
1924	193	11	883	1087
	602 = 9,3 %	168 = 2,6 %	5725 = 88 %	6495

Tabelle IX.
Welcher Kategorie gehören die an Tollwut gestorbenen an?

Gebissen von Tieren					
der Kategorie A		der Kategorie B		der Kategorie C	
von Hund	von Wolf	von Hund	von Wolf	von Hund	von Wolf
2	1	1	—	20	9
9 Proz.		3 Proz.		88 Proz.	

Tabelle X.
Lage der Bisse.

Jahr	Kopf	Körper	Hände	Füße	Insgesamt
1921	115	50	958	899	2022
1922	85	44	957	822	1908
1923	92	43	792	551	1478
1924	67	35	540	445	1087
	359 = 5,52 Proz.	172 = 2,64 Proz.	3247 = 50 Proz.	2717 = 41,84 Proz.	6495

Anmerkung: Bei multiplen Bissen (welche bei uns sehr oft vorkommen) ist nur der allerschwerste angezeigt.

Außerdem ist der Umstand, daß 88 Proz. der Verstorbenen von Tieren C gebissen worden sind (unbekannte Tiere), von Wichtigkeit, da

gegenüber welchen er Ungenauigkeiten in diesem Buche angeführt hat. Ich bin aber der Meinung, daß das nicht genügend ist, wenn man solche Studien, welche gar als kritisch hingestellt werden, auf Grund solcher Angaben aufbaut. Immerhin zwingt mich die Notiz auf S. 7, von jeder weiteren Polemik Abstand zu nehmen.

er auch als Beweis für die starke Verbreitung der Lyssa unter den Tieren dienen kann.

Zuletzt sei erwähnt, daß bei Anwendung des ätherisierten Impfstoffes keine Impfschädigungen bis jetzt beobachtet worden sind, nicht einmal bei Kindern zartesten Alters; höchstens wurden hier und da minimale Rötungen und Jucken bemerkt. Allerdings ist bei fettleibigen Personen verlangsamte Resorption beobachtet worden, welche als kleines Infiltrat bemerkbar bleibt, aber nach 2—3 Tagen bereits restlos vergeht. Starke Rötungen, langdauernde Infiltrationen, Fieber und dergleichen sind also nur auf unsterile Arbeit zurückzuführen.

Desgleichen haben wir bis jetzt nur einen einzigen Fall von Myelitis beobachtet, und das bei einem sehr nervösen Mädchen, welches nach Einverleibung von 60 ccm Aetherimpfstoff an einer spastischen Parese der linken Extremität erkrankte und nach 10 Tagen wieder vollständig hergestellt war.

Zusammenfassung

1) Die von mir nach Remlingers und meinen Experimenten eingeführte Impfmethode gegen Wut mit ätherisiertem Virus fixe immunisiert fest gegen die Wut, besonders wenn hohe Dosen schnell vom Beginn der Behandlung an einverleibt werden. Dabei muß man jeden Fall individuell behandeln und besonders dort, wo das Straßenvirus erhöhte Virulenz aufweist, ja nicht zu geringe Dosen des Impfstoffes einverleiben, wenn man Spättode an Wut vermeiden will.

2) Die Einführung dieser Methode ist als eine Notwendigkeit aufzufassen, damit wir hochvirulentes Straßenvirus erfolgreich bekämpfen können. Die während der Behandlung bei von Wölfen und von Hunden Gebissenen vorgekommenen Todesfällen sind nicht als Mißerfolge der Methode aufzufassen. Sie liefern vielmehr noch einen Beweis, wie hochvirulent gewöhnlich unser Straßenvirus ist. Somit ist auch erklärlich, daß die Resultate der Wiener Anstalt (Schweinburg) — wo diese Methode meines Wissens noch nicht mit abgeschälter grauer Substanz, sondern noch mit der Gesamthirnsubstanz durchgeführt wird — viel besser als die unserigen sind, da dort die veterinärpolizeilichen Maßnahmen streng durchgeführt werden und verstärktes Straßenvirus eine Seltenheit ist.

3) Als Impfschädigung ist bei uns bis jetzt bei einer Gesamtzahl von 6500 Fällen nur eine einzige Myelitis beobachtet worden. Andere Beschwerden, wie Rötungen, langdauernde Infiltrationen, Abszesse usw., kommen bei Anwendung der Modifikation und sterilem Arbeiten nicht vor.

4) Als notwendig muß es bezeichnet werden, daß in Zukunft die von den verschiedenen Instituten erscheinenden Statistiken auch genaue Angaben über die Virulenz des Straßenvirus enthalten. Nur an der Hand solcher Daten lassen sich die mit den verschiedenen Methoden an den verschiedenen Instituten gesammelten Erfahrungen vergleichen;

das bisher übliche Verfahren der Bewertung einer Impfmethode auf Grund der Mortalität unter den Gebissenen gibt kein brauchbares Urteil.

Die Frage der prophylaktischen Behandlung der Wut muß meines Erachtens von Grund auf neu studiert werden. Ferner erscheint es geboten, das „Virus fixe“ der verschiedenen Institute miteinander zu vergleichen, um zwischen ihnen bestehende Unterschiede kennen zu lernen, und um möglichst zu einer Einheitlichkeit und Standardisierung dieser Größe zu gelangen. Weiterhin sind Versuche über die Herstellung von Lyssa-Immunserum, über die Einführung desselben für die prophylaktische Schutzimpfung und über seine Standardisierung notwendig.

Von nicht geringerer Bedeutung ist auch die Frage des Studiums des Straßenvirus, wofür ein einheitlicher Plan zur Prüfung desselben auszuarbeiten wäre.

Alle diese Fragen sollten zweckmäßig Gegenstand einer internationalen Konferenz sein, welche, wie wir hoffen, allseits lebhaft begrüßt werden würde.

Literatur.

1) Alivisatos, G. P., Dtsch. med. Wochenschr. 1922. Nr. 9. — 2) Ders., Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 30. 1922. S. 435. — 3) Fermi, I Metodi Fermi di vaccinazione et di siero-vaccinazione antirabica confrotata con tutti gli altri metodi esistenti. Instituto sieroterapico Milanese. — 4) Hempt, Sur une méthode rapide de traitement antirabique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 39. 1925. No. 7.) — 5) Remlinger, Les virus rabiques renforcés etc. (Compt. Rend. Soc. de Biol. T. 92. 1925. p. 681. — 6) Schweinburg, Seuchenbekämpfung 1924. S. 135; 1925. S. 223.

Bakteriologische Untersuchungen von Harn, Galle und Duodenalsaft.

[Bakteriologische Untersuchungsanstalt Dresden (Direktor: Geheimrat Schmorl).]

Von Dr. **Hermann Schmitz.**

In den letzten 2 Jahren hat die Zahl der unserer Anstalt überwiesenen Proben von Harn, Galle und Duodenalsaft ganz bedeutend zugenommen. Dies dürfte seinen Grund einmal in der so häufig (nicht immer mit Recht) diagnostizierten „Colipyelitis“ haben, dann in der Einführung der Duodenalsonde zu diagnostischen Zwecken.

Wir haben in den letzten 2 Jahren (vom 1. 1. 1924 bis 31. 12. 1925) im ganzen untersucht: 529 Harnproben, 158 Proben von Galle und 127 Proben von Duodenalsaft. Da unsere Ergebnisse von denen der vorliegenden Veröffentlichungen nicht unwesentlich abweichen, zumal hinsichtlich der Häufigkeit des Coli-Befundes, erscheint mir eine kurze Kenntnisgabe derselben gerechtfertigt. Vorausschicken muß ich, daß der Begriff des Bact. coli noch ein sehr unbestimmter und die

Coli-Diagnose je nach den Anforderungen des betreffenden Untersuchers eine schwankende ist. Wir haben, entsprechend unserem Vorgehen bei Wasser- und Milchuntersuchungen, dann Bact. coli diagnostiziert, wenn es sich um ein kurzes gramnegatives sporenloses Stäbchen handelt, das auf Endo-Agar tief dunkelrote metallisch glänzende Kolonien mit Rötung der Umgebung bildet, sowie Trauben- und Milchzuckerbouillon unter Säurebildung und Gasentwicklung vergärt. Wir haben also den Begriff Coli (auf die Prüfung der Indolbildung in Peptonlösung und der Fermententwicklung, Gerinnung der Milch verzichtend) im Sinne des von Gärtner[1]) „atypisches Coli" genannten Bakteriums recht weit gefaßt.

Eine Prüfung der Hämolyse der gefundenen Coli-Stämme, wie sie von amerikanischen Autoren, dann von Löwenberg und in ausgedehntem Maße im vergangenen Jahr von Bitter und Gündel vorgenommen und als ein Maßstab der Virulenz angesehen wurde, haben wir bisher nicht ausgeführt. Wir glauben in Analogie mit unseren langjährigen Erfahrungen an Streptokokken, daß die Hämolyse für die Virulenz der einzelnen —auch Coli- — Stämme jedenfalls nicht allein maßgebend ist[2]).

Abgesehen von direkten Ausstrichen auf Endo-Platten haben wir in allen Fällen auch eine Fleischbrühe beimpft und von dieser „Vorkultur" nach 24- bzw. 48stünd. Bebrüten bei 37° wiederum mehrere Oesen auf Endo ausgestrichen.

Was zunächst die Harnproben betrifft — Säuglingsharn war

Tabelle I.

1924

Harnproben 167.

Männer 44		Frauen 152
12	Steril	50
1	Streptokokken	6
9	Staphylokokken	39
4	Gram + Diplokokken	12
4	Bakteriengemisch	24
1	Pneumokokken	—
1	Coli-Bazillen	5
—	Staphylo- und Streptokokken	4
—	Tetragenus	1
—	Kapselbazillen	3

1925

Harnproben 333.

Männer 78		Frauen 255
21	Steril	85
5	Streptokokken	11
16	Staphylokokken	41
16	Gram + Diplokokken	32
5	Bakteriengemisch	16
4	Coli-Bazillen	24
1	Kapselbazillen	10
1	Enterokokken	6

Also in 2 Jahren 529 Untersuchungen (122 Männer und 407 Frauen), darunter nur 34mal Coli-Bazillen, 7mal Enterokokken, aber 105mal Staphylokokken.

Der Rest der Untersuchungen betraf den Nachweis von Tbc. oder Gonokokken.

1) Hygiene des Wassers. 1. Aufl. S. 456.

2) Bitters Anregung folgend, werden wir aber in Zukunft die Hämolyse prüfen.

nicht dabei — so betonen die meisten Kliniker die häufigen Coli-Infektionen der Harnwege und wurden dementsprechend auch vorwiegend Coli-Bazillen im Harn gefunden. Im Gegensatz hierzu haben wir Coli-Bazillen nur selten nachweisen können (unter 509 Harnproben nur 34mal); in unseren Fällen überwogen bei weitem die Staphylokokken. entweder allein (105mal) oder mit anderen Keimen zusammen. Alles Nähere ist aus der Tabelle I ersichtlich.

Ueber die noch strittige Frage, ob die Infektion der Harnwege bei der Frau hauptsächlich aszendierend, beim Manne dagegen mehr auf dem Blutwege erfolgt, lassen unsere nicht genügend zahlreichen Coli-Befunde keinen Schluß zu. Ob das Ueberwiegen der Staphylokokken mit der in der Nachkriegszeit festgestellten Zunahme von Furunkeln, Phlegmonen und Dermatomykosen in irgendeinem Zusammenhang steht, erscheint mir nicht ausgeschlossen. Zur Klärung dieser Frage könnte nur eine genaue sorgfältige Anamnese der einzelnen Fälle beitragen; auch an eine etwa vorausgegangene Angina als Eintrittspforte der Infektionserreger wäre hierbei zu denken.

Bei Beurteilung der Befunde im Duodenalsaft und in der Galle ist — abgesehen von chirurgischen Fällen, wo eine direkte Punktion der Gallenblase gemacht wird — größte Vorsicht geboten, da ein Verschleppen von Keimen aus der Mund- und Rachenhöhle beim Einführen der Sonde sich kaum vermeiden läßt. Hiermit dürfte der mehrfach berichtete auffallend hohe Prozentsatz von Pneumokokken (bis 60 Proz.) vielleicht seine Erklärung finden. Die von Weilbauer gefundenen Pneumokokken hält Kurt Meyer wenigstens zum Teil für Enterokokken; hierfür scheint mir auch die Galleunlöslichkeit dieser Kokkenart (im Gegensatz zu den Pneumokokken) zu sprechen. Im übrigen hat sich immer wieder die Tatsache bestätigt, daß die Salzsäuresekretion des Magens und eine normale Funktion der Magenmuskulatur für den Bakteriengehalt des Duodenums von ausschlaggebender Bedeutung sind. Normalerweise scheint der Duodenalsaft steril zu sein (nach Gorke, Höfert, Raue usw. in etwa 50 Proz.) oder eine nur sehr spärliche Darmflora zu enthalten.

Auch Borchardt[1]) fand 1923 beim gesunden Hund den aus einer Fistel entnommenen Duodenalsaft „immer schwach keimhaltig“ vorwiegend verschiedene Kokkenarten und Proteus, „Coli-Bazillen nur in seltenen Fällen“.

Unser Material stammt zum größten Teil, etwa $^3/_4$ der Proben, von den inneren Abteilungen des Krankenhauses Friedrichstadt (Duodenalsaft und „Blasengalle“ nach Witte-Pepton mit der Sonde entnommen), die übrigen Proben wurden uns von der chirurgischen Abteilung zugesandt. Während nun im allgemeinen bei Erkrankungen des Gallensystems (Cholangitis) die Coli-Bazillen als Haupterreger gelten, ist nach unseren Befunden übereinstimmend mit Kliewe, Huntemüller und anderen den Staphylokokken der erste Platz in der Aetiologie der „Cholangie“ (Naunyn) einzuräumen. Näheres in Tab. II u. III.

Auffallend ist, dies im Gegensatz zu Kurt Meyer und Gorke, der seltene Befund von Enterokokken, obschon wir, für diese Kokkenart besonders interessiert[2]), auf ihr Vorkommen genau geachtet haben. Zu beachten ist ferner der meines Wissens bisher nicht erwähnte Befund

1) Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 37. S. 10. Anmerkung.
2) Centralbl. f. Bakt. Bd. 67 u. 96.

Tabelle II.
1924
Galle 62.

Männer 26		Frauen 33
11	Steril	7
1	Streptokokken	2
4	Staphylokokken	8
4	Gram + Diplokokken	3
3	Bakteriengemisch	3
2	Coli-Bazillen	2
1	Enterokokken	—
—	Kapselbazillen	3

1925
Galle 96.

Männer 41		Frauen 55
6	Steril	15
2	Streptokokken	1
13	Staphylokokken	10
6	Gram + Diplokokken	13
4	Coli-Bazillen	4
—	Kapselbazillen	4
5	Bakteriengemisch	4
1	Enterokokken	1

Also in 2 Jahren 158 Untersuchungen (67 Männer und 88 Frauen), darunter nur 12mal Coli-Bazillen und 2mal Enterokokken, aber 35mal Staphylokokken. Der Rest konnte wegen Verunreinigung der Platten nicht verwendet werden.

Tabelle III.
1924
Duodenalsaft 41.

Männer 9		Frauen 32
2	Steril	13
1	Staphylokokken	6
1	Gram + Diplokokken	4
—	Coli-Bazillen	2
3	Bakteriengemisch	2
1	Kapselbazillen	1

1925
Duodenalsaft 86.

Männer 8		Frauen 28
12	Steril	7
10	Staphylokokken	9
14	Gram + Diplokokken	5
5	Coli-Bazillen	1
8	Bakteriengemisch	4
—	Kapselbazillen	1

Also in 2 Jahren 127 Untersuchungen (davon 67 Männer und 60 Frauen) darunter nur 8mal Coli-Bazillen, aber 26 Staphylokokken; Rest wegen Verunreinigung der Platten nicht zu verwerten.

von Soorpilzen (3mal) und das alleinige Vorkommen von Pyocyaneus (1mal)[1].

Ueber die Beziehungen besonders in ätiologischer Hinsicht der obigen Befunde zu den Erkrankungen des Gallensystems und des Magendarmkanals läßt sich aus unseren Untersuchungen, wenn dieselben auch beachtenswerte Hinweise für die Diagnose geben, etwas Bestimmtes nicht sagen[2]; hierzu ist meines Erachtens ein noch weit größeres Untersuchungsmaterial erforderlich.

1) Wagner fand ihn unter 465 Fällen 2mal.
2) Deshalb ist in den Tabellen die klinische Diagnose weggelassen.

Studien über den Mechanismus der natürlichen Immunität.

IV. Mitteilung.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Odessaer Medizinischen Instituts.]

Von Prof. **W. Jelin**, Odessa.

Nachdem wir den Mechanismus der natürlichen Immunität aufgeklärt[1]), wollen wir nun die Möglichkeit untersuchen, ihre Energie zu steigern, und ferner die Wege, die der Organismus dazu benutzt. Zunächst aber müssen wir uns darüber verständigen, was unter Energiesteigerung der natürlichen Immunität zu verstehen ist. Den gegenüber diesem oder jenem Infektionsstoff erlangten Immunitätsgrad können wir durch Vergleichung der vom Organismus zu ertragenden Virusquanten vor und nach der Immunisierung feststellen. Besitzt nun der Organismus vollständige Immunität, so ist er offenbar imstande, mit einer unbestimmt großen Mikrobenanzahl fertig zu werden. Jüngst hat Metalnikow gezeigt, daß der Raupe von Galleria Mellonella eine ungeheure Menge von Tuberkelstäbchen, denen gegenüber diese Raupe immun ist, einverleibt werden kann, wobei die Raupe selbst keinerlei Schaden davonträgt[2]). An Warmblütern läßt sich dieser Versuch selbstverständlich nicht ausführen, da die parenterale Einführung einer großen Menge von Eiweißsubstanz Intoxikationserscheinungen hervorruft. Für die Saprophyten müssen wir jedenfalls einen anderen Gradmesser suchen als die Mikrobenzahl, der das Tier widerstehen kann. Als solcher Gradmesser kann die Zeitdauer dienen, in der die gleiche Anzahl von Saprophyten im Organismus eines normalen und eines mit Saprophyten immunisierten Tieres zugrunde gehen. Wir dürfen von einer Energiesteigerung der natürlichen Immunität dann sprechen, wenn eine Beschleunigung der Zeitdauer des Zugrundegehens der Saprophyten im immunisierten Organismus im Vergleich zu der im normalen erzielt wird. Daher haben wir Kaninchen mit steigenden Dosen unserer Saprophyten immunisiert und die zu dem Verschwinden einer bestimmten, ip. einverleibten Mikrobenmenge erforderliche Zeitdauer ermittelt.

Versuch I.

Ein Kaninchen wurde durch Einspritzung in die Ohrvene von 1, 2, 3 ccm Suspension von lebenden Bac. mycoid. ros. jede 48 Std. immunisiert. Die Suspension wurde nach der in unseren vorigen Mitteilungen gegebenen Anleitung hergestellt. Am 7. Tage nach beendeter Immunisierung erhielt das Versuchskaninchen ip. 3 ccm Suspension Bac. mycoid. ros.; die Kontrolle erhielt dasselbe. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 25 Min.	∞ Kolonien (nicht gezählt)	∞ Kolonien
„ 1 „ 45 „	4800 „	9600 „
„ 3 „ 15 „	540 „	6300 „
„ 5 „ — „	60 „	2400 „
„ 11 „ 35 „	0 „	350 „
„ 18 „ — „	0 „	0 „

1) W. Jelin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.

2) Metalnikow, Phagocytose dans l'immunité. (Ann. de l.Inst. Pasteur. T. 38.)

Demnach verschwindet die Bac. mycoid. ros.-Suspension in der Bauchhöhle des mit diesen Mikroben immunisierten Kaninchens $2^1/_2$- bis 3mal schneller als in der Bauchhöhle des Kontrolltieres. Um uns Klarheit darüber zu verschaffen, wie lange die erlangte Energiesteigerung der natürlichen Immunität anhält, haben wir dieselbe Versuchsprozedur an einer Reihe dem Obigen gemäß immunisierter Kaninchen wiederholt, jedoch mit längeren Zeitintervallen, und festgestellt, daß die Energiesteigerung der natürlichen Immunität nicht besonders lange andauert. 25 Tage nach der Immunisierung war sie verhältnismäßig abgeschwächt: 3 ccm ip. injizierter Suspension des Bac. mycoid. ros. verschwanden in 10—11 Std.; nach 31 Tagen ist die Norm wiederhergestellt.

Versuch II.

Ein Kaninchen erhielt jeden 2. Tag 1, 2, 3 ccm einer Suspension des lebenden weißen Staphylokokkus in die Ohrvene und am 7. Tage nach der letzten Injektion 8 ccm weißer Staphylokokken ip.; letztere Dosis bekam auch das Kontrolltier. Gewachsen sind aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 10 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 2 „ — „	420 „	6000 „
„ 6 „ 40 „	0 „	720 „
„ 9 „ 20 „	0 „	180 „
„ 12 „ 40 „	0 „	15 „
„ 24 „ 10 „	0 „	0 „

In der Bauchhöhle des immunisierten Kaninchens ging eine bestimmte Suspension des weißen Staphylokokkus 2—3mal schneller zugrunde als beim normalen Kontrolltier. Auch in diesem Falle erwies sich, daß die erworbene Energiesteigerung der natürlichen Immunität, allmählich abnehmend, ungefähr einen Monat lang anhielt.

Versuch III.

Ein wie im vorigen Versuche mit Sarcina flava immunisiertes Kaninchen erhielt am 7. Tage nach beendigter Immunisierung ip. 3 ccm einer Suspension lebender Sarcinae flavae; dasselbe erhielt die Kontrolle. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 10 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 1 „ 50 „	150 „	2000 „
„ 3 „ 10 „	6 „	1000 „
„ 4 „ 10 „	0 „	522 „
„ 8 „ 50 „	0 „	0 „

Auch hier ist eine Energiesteigerung der natürlichen Immunität etwa um das Zweifache gegenüber der Norm erzielt, die ebenfalls, allmählich abnehmend, ungefähr einen Monat anhält.

Versuch IV.

Ein Kaninchen wurde in besagter Weise mit Bac. anthracoides immunisiert; am 7. Tage nach der Immunisierung erhielt es ip. 3 ccm Bac. anthracoides; die gleiche Menge bekam die Kontrolle. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach 10 Min.	1200 Kolonien	1600 Kolonien
„ 20 „	80 „	420 „
„ 45 „	0 „	186 „
„ 90 „	0 „	0 „
„ 120 „	0 „	0 „

Die Zeit, in der die Suspension des Bac. anthracoides in der Bauchhöhle des immunisierten Kaninchens zugrunde ging, war etwa um das Dreifache kürzer. Die erzielte Energiesteigerung der natürlichen Immunität hält ebenfalls etwa einen Monat an, allmählich abnehmend.

Somit sprechen die Ergebnisse all dieser Versuche dafür, daß durch Immunisierung mit Saprophyten eine Energiesteigerung der natürlichen Immunität oder, was dasselbe ist, eine Verkürzung der Zeitdauer erzielt werden kann, in der der Organismus des Tieres eine bestimmte Menge entsprechender Mikroben abtötet; diese Energiesteigerung hält, die allmähliche Energieabnahme mitgerechnet, etwa einen Monat an. Eine längere Dauer ist jedoch bei anderen Mikrobenarten nicht ausgeschlossen. — Was ist die Ursache dieser Erscheinung? Dieselbe ist wahrscheinlich zunächst in der entsprechenden Steigerung der phagozytären Energie des Bauchfellendothels zu suchen, und sodann in einer mutmaßlichen Steigerung der bakteriziden Eigenschaften der Körperflüssigkeiten. Bevor wir an unseren Immuntieren die Zeitdauer bestimmten, innerhalb der ip. eingeführte Mikroben der gleichen Art abstarben, entnahmen wir Blut der Ohrvene und untersuchten die Bakterizidie des Serums. Normalerweise ist diese, wie uns schon bekannt, beim Kaninchen gegenüber dem Bac. mycoid. ros. und Staphylococcus albus = 0; gegenüber Sarcina flava ist nur unverdünntes Blutserum wirksam, während der Bakterizidietiter für Bac. anthracoides 1:20 beträgt. Die Bakterizidieprüfung des Blutserums immunisierter Kaninchen hat gezeigt, daß dieses keine Veränderung erlitt, d. h. die Blutbakterizidie ist infolge der Immunisierung nicht gestiegen. Die zeitliche Verkürzung der Vernichtung entsprechender, in die Bauchhöhle immunisierter Tiere einverleibter Saprophyten ist also offensichtlich auf die Steigerung der phagozytären Energie des Bauchfellendothels zurückzuführen. Eine Ausschaltung des retikulo-endothelialen Endothels (R.-E.) mittels Tuscheblockierung führt auch in der Tat eine Verlängerung der Zeitdauer herbei, in der die Keime in der Bauchhöhle von immunisierten Tieren absterben, was aus nachstehenden Versuchen ersichtlich ist.

Versuch V.

Zwei Kaninchen wurden mit weißem Staphylokokkus immunisiert, indem sie jeden 2. Tag 1, 2, 3 ccm Suspension erhielten. Vom 5. Tage ab nach beendeter Immunisierung wurden dem einen von ihnen in 48 Std. 30 ccm 5proz. Tusche injiziert, und zwar 20 ccm ins Blut, 10 ccm ip. Das zweite Kaninchen diente als Kontrolle und wurde mit Tusche nicht behandelt. 24 Std. nach der letzten Tuscheinjektion erhielten beide Kaninchen ip. 3 ccm einer Aufschwemmung des weißen Staphylokokkus. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 15 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 3 „ 20 „	∞ „	720 „
„ 4 „ 55 „	6000 „	87 „
„ 7 „ 25 „	3600 „	0 „
„ 11 „ 10 „	1380 „	0 „
„ 24 „ — „	0 „	0 „

Versuch VI.

Zwei Kaninchen wurden immunisiert, indem sie jeden 2. Tag Gaben von 1, 2, 3 ccm einer Suspension des Bac. mycoid. ros. erhielten. Vom 5. Tage an nach vollzogener Immunisierung wurde das eine Kaninchen mit Tusche behandelt wie in

Versuch V; das andere diente zur Kontrolle. 24 Std. nach der letzten Tuscheinjektion erhielten beide Kaninchen ip. 3 ccm Bac. mycoid ros. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std 15 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 1 „ 45 „	∞ „	∞ „
„ 2 „ 45 „	∞ „	1140 „
„ 4 „ 25 „	4200 „	123 „
„ 6 „ 40 „	2200 „	0 „
„ 9 „ 30 „	850 „	0 „
„ 12 „ 30 „	204 „	0 „
„ 24 „ — „	0 „	0 „

Ganz anders war der Ausfall der Versuche, wenn wir das R.-E. eines mit Bac. anthracoides immunisierten Kaninchens blockierten. Erhielt ein so behandeltes Kaninchen ip. eine Suspension Bac. anthracoid., so war im Vergleich zu dem Kontrolltier keine Verlängerung, sondern eine Verkürzung der Zeitdauer der Vernichtung besagter Mikroben nachweisbar, was im Zusammenhange steht mit der Zunahme der Bakteriolysine im Blute infolge der R.-E.-Blockierung.

Aus Gründen, die in unserer vorhergehenden Arbeit angegeben sind, waren die Versuchsergebnisse mit Sarcina flava nicht so eindeutig.

Somit gelangen wir zu dem Schlusse, daß die Ursache der beschleunigten Vernichtung unserer Saprophyten in der Bauchhöhle der mit entsprechenden Mikroben immunisierten Kaninchen in der Steigerung der phagozytären Energie des retikuloendothelialen Gewebes zu suchen ist. Das letztere hat infolge der Immunisierung mit Saprophyten eine entsprechende Umwandlung erfahren, die die R.-E.-Zellen fähig macht, diese Mikrobenart energischer aufzunehmen und zu verdauen. Diese allergische Umwandlung hält ungleiche Zeit an, je nach der Art der Saprophytenmikroben. Stellen wir nun Singers und Adlers und desgleichen Bass' Versuche mit unseren zusammen, so sehen wir, daß die besagte spezifische Umstimmung der R.-E.-Zellen in gleicher Weise sowohl durch Immunisierung mit pathogenen Keimen als auch mit Saprophyten bewirkt wird; mit dem Unterschiede, daß in einem Falle der immunisierte Organismus mit einer größeren Anzahl von pathogenen Keimen fertig wird, im anderen die Zeitdauer des Zugrundegehens der Saprophyten im Organismus kürzer wird.

Unser Standpunkt ist folglich gewissermaßen eine Rückkehr zu den Ansichten der Metschnikoffschen Schule, die behauptet, daß die unter der Einwirkung der Immunisierung umgestimmten Phagozyten die Fähigkeit erwerben, den Keimen energischer zu widerstehen, d. h. dieselben besser und schneller zu verdauen; der Unterschied besteht darin, daß Metschnikoff den Schwerpunkt in die beweglichen Phagozyten verlegt, die in Wirklichkeit nur eine höchst unbedeutende Rolle im Kampfe des Organismus mit den Keimen spielen, während der Schwerpunkt in den R.-E.-Zellen liegt. Wenn andererseits infolge Immunisierung die Blutbakterizidie sich steigerte, so würde unseren vorherigen Versuchen gemäß eine noch größere Beschleunigung des Zugrundegehens unserer Mikroben im Organismus des immunisierten Tieres statthaben. Nun sei hier daran erinnert, daß die an und für sich gegenüber Bac. mycoid. ros. und dem weißen Staphylokokkus keine Bakterizidie aufweisende Bauchhöhlenflüssigkeit nach erfolgter Einverleibung dieser Mikroben in die Bauchhöhle ihnen gegenüber eine, zwar nicht hochgradige Bakterizidie erwirbt. Wodurch läßt sich dieser Widerspruch erklären? Diese Frage kann vom Standpunkte der von Wassermann

und Citron, von Dungern, Römer u. a. ausgeführten Versuche gelöst werden. Die erstgenannten beiden Autoren[1]) injizierten einer Serie Kaninchen Typhusbazillen intraperitoneal, einer anderen intrapleural, einer dritten intravenös und fanden, daß die stärkste Wirkung auf die Typhusbazillen im ersten Falle die Bauchhöhlenflüssigkeit, im zweiten das Pleurahöhlenexsudat und im dritten das Serum ausübten. Von Dungern[2]) konstatierte Präzipitine zunächst in dem Auge, in das ein Eiweißfremdkörper eingeführt war, und erst nachher im Serum. Daraus kann gefolgert werden, daß die Antikörper von den Zellen erzeugt werden, die zu allererst mit den Antigenen in Berührung kommen. Nehmen wir an, daß unsere Saprophyten sehr geringe Antigeneigenschaften besitzen, so wird es begreiflich, warum die Bauchhöhlenflüssigkeit nach Einführung einer Suspension von Bac. myc. ros. oder von weißem Staphylokokkus bakterizide Eigenschaften an den Tag legt, während nach der Injektion der genannten Mikroben ins Blut in diesem keine Bakteriolysine zu konstatieren waren: die Zahl der entstandenen Bakteriolysine ist offenbar so unbedeutend, daß dieselben in der geringen Menge Bauchhöhlenflüssigkeit, d. h. an der Berührungsstelle des Antigens mit den Zellen noch nachweisbar sind, während ihr Einfluß in der gesamten Blutmenge sich verliert.

Unsere Auffassung, daß die R.-E.-Zellen infolge Immunisierung eine spezielle Umwandlung erfahren, die ihre phagozytäre Energie steigert, deckt sich in diesem Punkte mit den Ansichten von Singer und Adler über den Mechanismus der erworbenen Immunität. Beide Forscher betrachten diesen Faktor als die Hauptursache der erworbenen Immunität; die Rolle der Antikörper in vivo ist denkbar, aber nicht bewiesen. Wir haben uns aber überzeugen können, daß die Bakteriolysine bei dem Mechanismus der natürlichen Immunität eine ziemlich wesentliche Rolle spielen (in bescheidenerem Maße sind vermutlich auch andere Antikörper daran beteiligt). Die Wirkung der bakteriziden Stoffe auf die Saprophyten läßt sich durch die Wehrlosigkeit derselben erklären, indes die Parasiten zur Abwehr dieser Stoffe Aggressine oder Kapseln ausbilden. Wir haben gesehen, daß sogar ein geringer Bakterizidiegrad unter Ausschaltung der Phagozytose der R.-E.-Zellen und der Leukozyten hinreichend ist, die Entwicklung der Saprophyten im Organismus zu hemmen. Diese Tatsache ist eine indirekte Bestätigung der von Bails Schule aufgestellten Ansichten, nach denen die sich zugunsten der Mikroben entfaltende Schutztätigkeit der Aggressine nicht ausschließlich gegen die Phagozyten, sondern auch gegen die Antikörper gerichtet ist, andernfalls würde schon ein geringer Bakterizidiegrad des normalen Blutes eine Vermehrung der Parasiten verhindern.

Andererseits vermag Bass der Ansicht nicht beizustimmen, daß als Ursache der Immunität eine spezifische Umstimmung der R.-E.-Zellen anzusehen sei, da im Blute gegen Streptokokken immunisierter Kaninchen Bakteriotropine vorhanden sind, die die Mikroben zur Aufnahme und Vernichtung in den Phagozyten vorbereiten; das Serum ist nach Bass' Meinung als Vermittler zwischen Kokken und R.-E. tätig, und somit wird die Annahme noch einer besonderen Umwandlung der R.-E.-Zellen überflüssig. Unsere Immunisierungsversuche an Kaninchen

---

1) Wassermann u. Citron, Ueber die Bildungsstätten der Typhusimmunkörper. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 50. 1905.)

2) v. Dungern, Die Antikörper. Jena 1903.

mit Saprophyten stehen in Widerspruch zu Bass, da in angegebenem Falle die Bakteriotropine nicht in Betracht kommen und die von uns festgestellte Energiesteigerung der natürlichen Immunität, die durch eine Verstärkung der Phagozytosenreaktion in Erscheinung tritt, auf die Umstimmung der R.-E.-Zellen zurückzuführen ist.

Nun wollen wir uns zur Erörterung der Frage wenden, ob die in unseren Versuchen nach erfolgter Immunisierung beobachtete Steigerung der phagozytären Energie der R.-E.-Zellen spezifisch, d. h. nur für entsprechende Mikroben geltend, oder unspezifisch ist. Letzterenfalls müßte die erlangte Steigerung der phagozytären Energie des R.-E. auch gegenüber andersartigen Mikroben geltend sein. Singer und Adler nehmen an, daß die Pneumokokkenimmunität streng spezifisch ist, indem sie nur die entsprechenden Typen beeinflußt. In der Tat beruht ja die ganze Lehre von der Immunität auf dem Spezifitätsgesetz, und wenn die genannten Autoren die Mitwirkung von spezifischen Antikörpern an der Abwehr einer Infektion seitens des Organismus als unentschieden hinstellen, so ist die grundlegende Tatsache der Spezifität der aktiven Immunität in die spezifische Umstimmung der Zellen des retikuloendothelialen Gewebes zu verlegen. Andererseits aber zeigen die die Grundlage der unspezifischen Eiweißkörpertherapie bildenden Beobachtungen zahlloser Forscher, daß Einspritzungen von Saprophyten, Vakzinen, verschiedenen Eiweißkörpern eine unspezifische Verstärkung der Widerstandsfähigkeit des Organismus gegenüber verschiedenartigen Infektionen, d. h. nach unserer Auffassung eine Steigerung der phagozytären Energie der Zellen des retikuloendothelialen Gewebes verleihen, was dadurch zum Ausdruck kommt, daß der Organismus die Fähigkeit erwirbt, eine größere Menge von pathogenen Keimen abzutöten als früher; bezüglich unserer Saprophyten muß diese Erscheinung, wie schon oben erwähnt, sich dadurch äußern, daß die Immunisierung mit gewissen Saprophyten nicht nur eine Beschleunigung der Vernichtung von entsprechenden, sondern auch andersartigen Saprophyten im immunisierten Organismus zur Folge hat.

Versuch VII.

Ein Kaninchen wurde jeden 2. Tag mit 1, 2, 3 ccm einer Suspension des Bac. mycoid. ros. immunisiert. Am 4. Tage nach der letzten Injektion erhielt das Tier ip. 3 ccm einer Suspension des weißen Staphylokokkus-Saprophyten. Das normale Kontrolltier erhielt ebensoviel. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 15 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 4 „ 25 „	316 „	945 „
„ 5 „ 35 „	413 „	1554 „
„ 7 „ 45 „	195 „	672 „
„ 10 „ — „	8 „	237 „
„ 12 „ 25 „	0 „	89 „
„ 16 „ 30 „	0 „	0 „
„ 24 „ — „	0 „	0 „

Das mit Bac. mycoid. ros. immunisierte Kaninchen wurde mit der Suspension des weißen Staphylokokkus schneller fertig (10 Std.) als das normale Kontrolltier (14—15 Std.); es muß zugegeben werden, daß diese Beschleunigung nicht so erheblich ist wie bei Verwendung

von homologen Mikroben und, unseren Versuchen gemäß, nicht länger als 8—10 Tage anhält. Die Ergebnisse waren dieselben, wenn das mit Bac. mycoid. ros. immunisierte Kaninchen andere Saprophyten ip. erhielt.

Versuch VIII.

Ein mit Bac. mycoid. ros. immunisiertes Kaninchen erhält am 4. Tage nach erfolgter Immunisierung 3 ccm einer Suspension von Sarcinae flavae; dasselbe erhält die Kontrolle. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 20 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 2 „ 30 „	960 „	4200 „
„ 4 „ 10 „	93 „	840 „
„ 5 „ 50 „	12 „	142 „
„ 7 „ — „	0 „	43 „
„ 9 „ 20 „	0 „	5 „
„ 24 „ — „	0 „	0 „

Auch hier liegt eine Beschleunigung der Vernichtung von Sarcina flava in der Bauchhöhle des mit Bac. mycoid. ros. immunisierten Kaninchens vor, die ebenfalls gegen 10—12 Tage anhält und nicht so stark ausgesprochen ist wie bei den gleichartigen Mikroben. Wenn wir andere Kombinationen untersuchten, erhielten wir den gleichen Befund: in der Bauchhöhle des mit einem von unseren Versuchssaprophyten immunisierten Kaninchens war stets eine Beschleunigung des Zugrundegehens anderer Versuchsmikroben zu beobachten, die zwar nicht so erheblich war wie bei Verwendung von homologen Mikroben.

Wir sehen also, daß die Immunisierung eines Tieres mit diesen oder jenen Saprophyten eine gut ausgesprochene und mehr oder weniger anhaltende Energiesteigerung der natürlichen Immunität gegenüber Mikroben und eine schwächere, von geringerer Zeitdauer, gegenüber andersartigen zur Folge hat. Daß auch diesem Phänomen eine allergische Umwandlung der retikuloendothelialen Zellen zugrunde liegt, läßt sich dadurch leicht beweisen, daß das Ausschalten des R.-E.-Gewebes durch Injektion von Tusche die Zeitdauer, in der die andersartigen Mikroben vernichtet werden, wieder verlängert.

Versuch IX.

Zwei Kaninchen wurden jeden 2. Tag mit einer Suspension des Bac. mycoid. ros. in Mengen von 1, 2 und 3 ccm immunisiert. Am 4. Tage nach der Immunisierung wurde das eine Kaninchen mit 30 ccm Tuschelösung wie in den früheren Versuchen behandelt. Nach 24 Std., d. h. am 6. Tage nach der Immunisierung, erhielt dasselbe Kaninchen ip. 3 ccm einer Suspension des weißen Staphylokokkus, das andere immunisierte, aber mit Tusche nicht vorbehandelte Kaninchen erhielt ein gleiches Quantum und diente als Kontrolle. Aus einem Tropfen Bauchhöhlenflüssigkeit sind gewachsen:

Entnahme	Versuchstier	Kontrolltier
nach — Std. 15 Min.	∞ Kolonien	∞ Kolonien
„ 3 „ 20 „	∞ „	960 „
„ 5 „ 30 „	6600 „	21 „
„ 8 „ 30 „	1500 „	0 „
„ 12 „ 15 „	272 „	0 „
„ 24 „ — „	0 „	0 „

Unsere Ansicht, daß die Verdauung der Mikrobenleiber durch die Zellen des retikuloendothelialen Gewebes in den letzteren eine spezifische Umwandlung hervorruft, die ihnen die Kraft verleiht, entsprechende Mikroben energischer und schneller zu vernichten, erlaubt, die beschriebenen Erscheinungen in Einklang miteinander zu bringen. Diese Spezifität ist jedoch etwas intimer aufzufassen als in dem Sinne, daß sie sich auf einzelne, durch diese oder jene Besonderheiten in der Struktur voneinander sich unterscheidende Eiweißgruppen erstreckt. Diese Annahme ermöglicht das Verständnis dessen, warum die Steigerung der phagozytären Energie der Zellen des retikuloendothelialen Gewebes auf andersartige Mikroben übergreift: die Leiber von verschiedenen Mikroben bestehen aus teils gleichen, teils verschiedenen Eiweißgruppen. Daher steigert die Immunisierung des Tieres mit diesen oder jenen Mikroben, mit einer oder anderer Eiweißart die phagozytäre Energie der Zellen des retikuloendothelialen Gewebes sowohl bezüglich der für die Immunisierung verwendeten, als auch andersartigen Mikroben; ein Unterschied besteht, wie die Erfahrung lehrt, nur darin, daß gegenüber den gleichartigen Mikroben die Steigerung der phagozytären Energie sich markanter äußert und länger anhält, als bei den andersartigen. Eine analoge Erscheinung ist in dem Vorhandensein von Gruppenantikörpern in einigen Gruppen von Bakterien zu sehen. Zur Erklärung der Gruppenagglutination wird beispielsweise zugegeben, daß die agglutinogene Substanz dieser Mikroben gemeinsame Komponenten hat, denen gleiche Agglutinine entsprechen, die Wassermann zum Unterschied von den spezifischen Hauptagglutininen als partielle Agglutinine bezeichnet; ein Unterschied besteht nur im Titer. Gegebenenfalls entspricht der Titerunterschied demjenigen zwischen der Höhe und Dauer der erzielten Steigerung der phagozytären Energie der R.-E.-Zellen gegenüber homologen und andersartigen Bakterien. Das Vorhandensein von Gruppenantikörpern widerspricht dem Gesetze der Antikörperspezifität durchaus nicht; es bestätigt dieses vielmehr. Auch die Tatsache, daß die Immunisierung neben der spezifischen Energiesteigerung der Immunität auch eine unspezifische auslöst, macht die Spezifität der Umwandlung von Zellen des retikuloentdothelialen Gewebes keineswegs wanken; es erhärtet vielmehr diese Spezifität.

Wir gelangen also zu dem Schlusse, daß in den Mikrobenleibern alle Eiweißkörpergruppen diese oder jene Rolle bei der Immunisierung spielen: die einen, in geringerem oder größerem Maße mit Antigeneigenschaften ausgerüsteten bewirken die Entstehung von Antikörpern, die andern rufen eine spezifische Umwandlung der R.-E.-Zellen und dadurch eine Steigerung ihrer phagozytären Eigenschaften hervor.

Schlußfolgerungen.

Die Immunisierung eines Tieres mit Saprophyten führt zur Steigerung der natürlichen Immunität, die sich in einer zeitlichen Verkürzung des Zugrundegehens einer bestimmten Mikrobensuspension im Organismus des immunisierten Tieres äußert. Die Energiesteigerung der natürlichen Immunität ist abhängig von einer spezifischen Umwandlung der Zellen des endothelialen Gewebes, von der Verstärkung ihrer funktionellen Leistungsfähigkeit; das Auftreten von bakteriziden Stoffen im Blute trägt aber noch mehr zu der Zunahme der natürlichen Immunität

bei. Daneben läßt sich ein Anwachsen der phagozytären Energie der R.-E.-Zellen gegenüber andersartigen Bakterien beobachten, die jedoch nicht so scharf ausgeprägt und andauernd ist. Dieser Umstand erklärt sich durch die Gemeinsamkeit einer gewissen Anzahl der Komponenten, aus denen die Mikrobenleiber bestehen.

Analyse der hämolytischen und Deviabilitätseigenschaften des Komplements.

[Aus dem Laboratorium der zentralen Arbeiterpoliklinik zu Kiew. (Konsiliarius: Prof. M. G. Benjasch).]

Von **G. M. Fränkel** und **E. E. Jolkwer.**

Dem Begriffe der Deviabilität des Komplements begegnen wir bei einer Reihe von Autoren. So sagt Sachs in seinem Aufsatz „Hämolysine des Blutserums"[1]): „Bemerkenswert ist, daß auch für die spezifische Komplementbindung Angaben vorliegen, welche auf die Bedeutung nicht nur des Komplementgehaltes, sondern auch der individuell variierenden Deviabilität der komplettierenden Seren hinweisen."

Hintze berichtet über eine Reihe von Fällen, wo ein Meerschweinchenserum mit hoher hämolytischer Kraft dasselbe in Gegenwart eines normalen Menschenserums verlor. Bei der Sektion der Meerschweinchen, welche dies paradoxe Komplement lieferten, stellte sich heraus, daß sie zum großen Teil an Pseudotuberkulose erkrankt waren. Ein ebensolcher Fall ist in der Arbeit von Dr. S. J. Jakubowitsch beschrieben. Dasselbe erwähnen Graentz, Kiss u. a.

In unserer Praxis hatten wir 2 solche Fälle. Die detaillierte Analyse des einen hat unzweifelhaft erwiesen, daß die Ursache der Erscheinung in der Deviabilität des Komplements zu suchen ist — in seiner Eigenschaft, sich besonders stark durch das normale Menschenserum, sowie auch durch den Komplex Serum-Antigen binden zu lassen.

Das Studium der individuellen Eigenschaften der Meerschweinchenseren in betreff ihrer hämolytischen Energie einerseits und ihres Deviabilitätsgrades anderseits bietet nicht nur ein theoretisches, sondern auch ein wichtiges praktisches Interesse: eine genaue Beurteilung dieser Eigenschaften ist das Hauptmoment der Methodik der Komplementbindungsreaktionen, insbesondere der WaR. In welchen Grenzen schwanken diese Eigenschaften in den einzelnen Sera? Wie summieren sie sich bei Vermischung von Seren?

Diesen Fragen ist die vorliegende Untersuchung gewidmet.

Wir haben folgende Versuche ausgeführt: eine Reihe Seren und deren Gemische wurden nach der Kaupschen Methode austitriert, d. h. es wurde die minimale hämolysierende Dose eines jeden einzelnen Serums und des Gemisches der ganzen Reihe von Seren bestimmt: 1) im hämolytischen System und 2) im hämolytischen System + Normalserum, bzw. + Antigen, bzw. + Gemisch: Serum-Antigen.

---

1) Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 2. 1913. S. 921.

Jedesmal wurden auf diese Weise 4—5 Seren und ein Gemisch von gleichen Teilen dieser Seren geprüft. Alle Ingredientien: Normalserum (1:5), Antigen (Arbeitsdosis), Ambozeptor (vierfache Titerdosis), Erythrozyten (3proz. Aufschwemmung des zentrifugierten Erythrozytenniederschlags) — sind allen Komplementen einer jeden Serie gemein. Für den Versuch wurde ein Normalserum mit nicht über die Norm starker Eigenhemmung gewählt. Alle Ingredientien wurden in der Menge von 0,25 ccm genommen, bei einem Gesamtvolumen des Gemisches 1,25 ccm.

Die Größe des deviabilisierten Teils des Komplements berechneten wir in Prozenten im Verhältnis zur Einheit desselben, welche durch Titration mit normalem Blutserum, mit Antigen und mit deren Gemisch ermittelt wurde. Beispiel: minimale hämolytische Komplementdosis im hämolytischen System = 0,04 ccm Serum (Verdünnung 1:10), im hämolytischen System + Normalserum = 0,1 ccm; es beträgt also die vom Normalserum absorbierte Komplementmenge 0,06 ccm, das sind 60 Proz. der Gesamtmenge des Komplements.

Im ganzen wurden 18 Versuche mit 74 Seren und 18 Gemischen derselben ausgeführt. Als Beispiel führen wir die Schemata zweier Versuche an.

Tabelle I.

Versuch III.

Meerschweinchensera (1:10)	K allein	K + S	Proz. des deviabilisierten K	K + A	Proz. des deviabilisierten K	K + S + A	Proz. des deviabilisierten K
a	0,05	0,1	50 Proz.	0,1	50 Proz.	0,1	50 Proz.
b	0,06	0,1	40 "	0,15	60 "	0,1	40 "
c	0,04	0,1	60 "	0,1	60 "	0,08	50 "
d	0,08	0,12	33 "	0,15	46 "	0,12	33 "
e	0,08	0,12	33 "	0,15	46 "	0,15	46 "
Gemisch gleicher Dosen der Komplemente	0,06	0,1	40 "	0,12	50 "	0,1	40 "

Versuch XV.

Meerscheinchensera (1:10)	K allein	K + S	Proz. des deviabilisierten K	K + A	Proz. des deviabilisierten K	K + S + A	Proz. des deviabilisierten K
a	0,06	Nicht angeordnet	—	0,15	60 Proz.	0,12	50 Proz.
b	0,08		—	0,15	46 "	0,12	33 "
c	0,01		—	0,15	33 "	0,15	33 "
d	0,08		—	0,15	46 "	0,1	20 "
Gemisch gleicher Dosen der Komplemente	0,05		—	0,15	66 "	0,1	50 "

K = Komplement, S = Serum, A = Antigen.

Wie aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich, ist die minimale hämolysierende Komplementdosis im hämolytischen System für verschiedene Seren verschieden; sie variiert im Versuch Nr. 3 von 0,04—0,08 ccm, in Versuch Nr. 15 von 0,05—0,1 ccm.

Eine ganze Reihe von Autoren weist ebenfalls auf die individuellen Schwankungen der hämolytischen Energie der Seren hin (Boas, Sonntag, Stern, Bruck, Trinchese). Nach Kaup variiert die minimale hämolysierende Dose der Seren von Monat zu Monat bei verschiedenen Meerschweinchen auf verschiedene Weise: von 0,01—0,04 ccm unverdünnten Serums (bei einem Gesamtvolumen des Gemisches 2,5 ccm). Bei uns schwankte die Größe der hämolytischen Einheit von 0,03—0,1 ccm Serum (Verdünnung 1:10) bei einem Gesamtvolumen des Gemisches 1,25 ccm.

Der Satz Langes über die Beständigkeit der komplementären Energie in Meerschweinchenseren muß also als unrichtig angesehen werden, und die bei der Originalmethode der WaR. verwendete Austitrierung des hämolytischen Systems bei gleicher Dosis des Meerschweinchenserums ist ungenau.

Ebensolche individuelle Schwankungen weisen die Seren in ihrem Deviabilitätsgrad auf. Aus 4 Seren des Versuches Nr. 3 verlor ein Komplement in Gegenwart von Normalserum 50 Proz. seiner hämolytischen Energie, das andere 40 Proz., das dritte 60 Proz., das vierte 33 Proz.

Ebenso verschieden sind für diese Seren die Komplementmengen, welche durch Antigen und Gemisch: Serum-Antigen gebunden werden. Für alle 74 Seren haben wir folgende Grenzgrößen des in ihnen absorbierten Komplementes festgestellt: in Gegenwart von Normalserum 20—73 Proz., in Gegenwart von Antigen 17—60 Proz., in Gegenwart des Komplexes Antigen-Serum 16—66 Proz. Besonders müssen wir 2 Seren erwähnen, welche in Gegenwart von Antigen ihre hämolytische Energie gar nicht verloren. Wir wollen weiter unten auf dieselben zurückkommen.

Die Versuche wurden mit verschiedenen Antigenen ausgeführt: mit alkoholischen spezifischen der Moskauer staatlichen Bakteriologischen und Venerologischen Institute, mit einem aus Deutschland bezogenen Antigen und mit cholesterinisiertem Antigen nach Sachs. Die Fähigkeit, Komplement zu absorbieren, war bei verschiedenen Antigenen verschieden, aber jedesmal verloren die verschiedenen Seren in Gegenwart ein und desselben Antigens verschiedene Mengen ihrer komplementären Energie. Wir müssen also anerkennen, daß dies die individuelle Eigenschaft eines jeden Komplements ist.

Das normale Menschenserum wurde, wie bereits erwähnt, jedesmal mit nicht über die Norm starker Eigenhemmung gewählt. Die antikomplementäre Wirkung solcher 2—3 Tage auf Eis bewahrter Seren steigerte sich gewöhnlich nicht. In mehreren Fällen jedoch wies ein Serum, das in frischem Zustand eine schwache antikomplementäre Kraft besaß, nach 2—3 Tagen bedeutende antikomplementäre Wirkung auf; einzelne dieser Seren bewirkten vollständige Hämolysehemmung sogar bei den allerhöchsten zur Titration verwendeten Komplementdosen. Bei schwachhemmenden Seren kamen die individuellen Eigenschaften derselben Komplemente zum Ausdruck.

Es ist uns nicht gelungen, durch Zusammenstellen der beiden Eigenschaften des Komplements — seiner hämolytischen Energie und seines Deviabilitätsgrades — irgendein Verhältnis zwischen ihnen festzustellen. Gewiß ergeben in der Mehrzahl der Fälle die Seren, welche eine große Menge komplementärer Energie besitzen und stark

hämolysieren, eine kleine Komplementeinheit[1]); oft aber ergeben dieselben Seren eine hohe KE., indem sie einen bedeutenden Teil ihrer Energie unter Einwirkung von Menschenserum und Antigen verlieren. So betrug in einem unserer Fälle die hämolytische Einheit 0,04 ccm (1:10 verdünntes Serum) und die KE. 0,06 ccm; hier verlor das an und für sich starke Komplement nur 33 Proz. seiner Energie. In einem anderen Falle betrug die minimale hämolysierende Dosis des Komplements 0,05 ccm, die KE. 0,1 ccm; das Komplement verlor 50 Proz. In demselben Versuche hatte ein anderes Komplement eine hämolytische Einheit von ebenfalls 0,05 ccm und eine KE. von 0,15 ccm, bei einem Verlust von 66 Proz. an komplementärer Energie.

In den von Hintze und anderen Autoren beschriebenen Fällen, sowie in unseren beiden Fällen, wo sich das eine, bedeutende hämolytische Energie besitzende Komplement in Gegenwart von Menschenserum und Gemisch Menschenserum + Antigen als sozusagen völlig inaktiv erwies, kommt seine Deviabilisationseigenschaft besonders stark zum Ausdruck.

Es kommen auch inverse Fälle vor, wo ein Komplement, das schwach hämolysiert, auch schwach gebunden wird. So hatte das Komplement „b" im Versuch Nr. 2 eine 0,08 ccm betragende hämolytische Einheit und eine KE. von ebenfalls 0,08 ccm; das durch Antigen und Gemisch Serum + Antigen deviabilisierte Komplement glich 0. In einem anderen Versuche erwies sich eins der Komplemente nur den Antigenen gegenüber als stabil: seine hämolytische Dose in Gegenwart zweier Antigene (des alkoholischen spezifischen und des cholesterinisierten nach Sachs) glich derjenigen im hämolytischen System (0,08 ccm); in Gegenwart aber von Normalserum, sowie des Gemisches Normalserum + Antigen wies dasselbe Komplement einen hohen Deviabilitätsgrad auf (KE. = 0,15 ccm).

Es ist selbstverständlich, daß diese individuellen Schwankungen der hämolysierenden Kraft und des Deviabilitätsgrades des Komplements bei der Bestimmung der Arbeitsdosis des Komplements im Wassermannschen Versuch jedesmal mitberechnet werden müssen.

Zur Anordnung der WaR. empfiehlt sich ein Gemisch aus mehreren Komplementen zu verwenden, in welchem sich die individuellen Eigenschaften eines jeden derselben ausgleichen. Unsere Versuche zeigen jedoch, daß die hämolytischen Eigenschaften des Gemisches nicht genau die Mittelwerte der hämolytischen Eigenschaften der es bildenden Komplemente darstellen. Größtenteils ist die hämolytische Kraft des Gemisches, im hämolytischen System ebenso wie in Gegenwart von Normalserum, Antigen und deren Gemisch, höher als diejenige, welche arithmetisch berechnet wird, und nähert sich mehr oder weniger dem am meisten aktiven Komplement der untersuchten Reihe, das es in einzelnen Fällen sogar übertreffen kann (s. Versuch Nr. 15). So im Versuch Nr. 4: hämolytische Komplementdosen 0,08 ccm—0,06 ccm — 0,05 ccm—0,08 ccm; im Durchschnitt 0,07 ccm; die in Wirklichkeit beobachtete Größe betrug 0,05 ccm. Solche Abweichungen, die stets

1) Unter Komplementeinheit (KE.) verstehen wir mit Kaup die minimale hämolysierende Komplementdosis, welche in Gegenwart des Gemisches **Normalserum—Antigen** bestimmt wird.

mit Verminderung der hämolytischen Einheit im Komplementgemisch verbunden sind, beobachteten wir in 72 Proz. aller Versuche; nur in 28 Proz. glich die beobachtete Dose der berechneten. Dasselbe in Gegenwart von Normalserum (17 Proz. Zutreffen, 83 Proz. Nichtzutreffen mit Verminderung der hämolytischen Einheit), dasselbe in Gegenwart von Antigen und Gemisch Serum + Antigen (22 Proz. Zutreffen, 78 Proz. Nichtzutreffen). Nur in einem Fall übertraf die hämolytische Dosis des Komplementgemisches in Gegenwart von Antigen die berechnete Durchschnittsdose. Die maximale Abweichung der bestimmten Dose von der berechneten erreichte 33 Proz., in der Mehrzahl der Fälle glich sie 20—30 Proz.

Die von uns beobachtete Erscheinung kann nicht durch technische Titrationsfehler erklärt werden: letztere müßten in einen Fällen zur Steigerung, in anderen zur Verminderung der berechneten Durchschnittsgröße führen, während in unseren Versuchen stets (mit einer einzigen Ausnahme) die Abweichung in ein und derselben Richtung beobachtet wurde. Außerdem wurde das Gemisch der Komplemente in allen Fällen zweimal titriert: die eine von uns titrierte es im Versuch, die andere bei Anordnung der WaR.; in allen Fällen war das Zusammentreffen der Werte für die hämolytische Einheit sowie für die KE. ein vollständiges.

Bleiben wir auf dem Boden der Rezeptorentheorie, so könnten wir eine Erklärung der von uns beobachteten Tatsache finden, indem wir eine Multiplizität der Komplemente und komplementophilen Gruppen des Ambozeptors und einen verschiedenen Aviditätsgrad zwischen denselben annehmen würden. In jedem einzelnen Serum können sich den verschiedenartigen komplementophilen Gruppen des Ambozeptors entsprechende Komplementgruppen nicht vorfinden, während im Gemisch der Seren die Bedingungen für Sättigung aller oder der Mehrzahl der Ambozeptorengruppen günstiger sind.

In unseren weiteren Versuchen wollten wir die Abhängigkeit der hämolytischen Energie des Meerschweinchenserums von den individuellen Eigenschaftn des Normalserums, des Antigens und deren Gemischen aufdecken. In 24 Versuchen wurde das Gemisch der Komplemente bei ein und demselben Antigen in Gegenwart von zwei oder drei Normalseren mit schwach bindenden Eigenschaften austitriert. In 87 Proz. (21 Titrationen) war die Uebereinstimmung der Werte der minimaler hämolysierenden Dosis des Komplements eine vollständige, in 13 Proz. erwies sich eine (stets geringe) Abweichung. In 22 Versuchen wurde das Komplement mit zwei oder drei verschiedenen Antigenen in Gegenwart von ein und demselben Serum austitriert. In 91 Proz. der Titrationen wurde wiederum völlige Uebereinstimmung des Wertes der Komplementeinheit beobachtet, in 9 Proz. eine geringe Abweichung.

Tabelle II (S. 424) kann als Beispiel für unsere Versuche dienen.

Aus derselben ist ersichtlich, daß trotz der bedeutenden Verschiedenheit der antikomplementären Eigenschaften eines jeden der drei Antigene die KE., d. h. die minimale hämolysierende Dosis des Komplements in Gegenwart von Normalserum und eines jeden dieser Antigen, sich als gleich erwies.

Tabelle II.

	Komplementmenge (1 : 10)	0,2	0,15	0,12	0,1	0,08	0,06	0,05	0,04	0,03
I.	K. allein	○	○	○	○	○	○	○	○	⊙
II.	K. + A. 1	○	○	⊖	◆	●	●	●		
III.	K. + A. 2	◆	●	●	●	●	●	●		
IV.	K. + A. 3	○	○	○	○	○	⊙	⊖		
V.	K. + S.	○	○	○	○	○	⊙	⊕		
VI.	K. + S. + A. 1	○	○	○	○	○	⊙	⊕		
VII.	K. + S. + A. 2	○	○	○	○	○	⊙	⊕		
VIII.	K. + S. + A. 3	○	○	○	○	○	⊙	⊕		

○ Hämolyse, ⊙ fast völlige H., ⊕ partielle H., ● keine H., ◆ schwache H.
K. E. = 0,08 ccm

Außerdem wurden gleichzeitig mit unseren Versuchen die Komplemente im bakteriologischen Institut des Herrn Prof. Benjasch durch Herrn D. Lerner austitriert, welcher seine Ergebnisse uns liebenswürdig zur Verfügung gestellt hat; dabei führte er die parallelen Titrationen bei gemeinsamem Komplement mit verschiedenen Ambozeptoren, Normalseren und Antigenen aus. Es wurden 25 solche Titrationen ausgeführt. In 64 Proz. der Versuche wurde Uebereinstimmung der hämolytischen Einheit, in 36 Proz. geringe Abweichung notiert (nicht über 15 Proz.). Die hämolytische Komplementdosis in Gegenwart von Normalserum traf in 52 Proz. der Versuche zusammen und ergab eine — ebenfalls geringe — Divergenz in den übrigen. Anders fielen die Resultate bei Titration des Komplements in Gegenwart des Antigens aus: 78 Proz. Abweichungen, welche in einer Reihe von Fällen bedeutend waren. Diese Abweichungen haben ihre natürliche Erklärung in der verschiedenen Natur bzw. dem verschiedenen Grade der antikomplementären Wirkung der verschiedenen in diesen Versuchen verwendeten Antigene, ebenso wie das Zusammentreffen der hämolytischen Dosen in Gegenwart verschiedener Normalseren natürlich dadurch erklärt wird, daß für die Versuche stets Seren mit schwach ausgesprochenen antikomplementären Eigenschaften verwendet wurden.

Bei Austitrierung des Komplements in Gegenwart eines Gemisches Normalserum + Antigen wurde in der Mehrzahl (84 Proz.) dieser Parallelversuche Uebereinstimmung der Größe der KE. bei geringer Divergenz in den übrigen Fällen festgestellt.

Die Größe der KE. in Gegenwart eines Gemisches Antigen + Normalserum verändert sich somit nicht in Abhängigkeit von den individuellen Eigenschaften des Antigens. Es scheint hier die Fähigkeit des Normalserums zum Ausdrucke zu kommen, desto ausgesprochener seine verteidigende Rolle gegen die antikomplementäre Wirkung des Antigens zu spielen, je stärker die letztere ist.

Praktisch hat dieser Satz eine Bedeutung in der Hinsicht, daß er die Methode der Austitrierung des Komplements mit einem einzigen Serum (im Gemisch mit Antigen) rechtfertigt: die auf diese Weise bestimmte KE. erweist sich als für die ganze Reihe der Seren der gegebenen Versuchsanordnung brauchbar. Wir überzeugten uns davon jedesmal, wenn wir für den Versuch absichtlich eine etwas (nicht über 10 Proz.) geringere Komplementdosis nahmen. In allen Fällen gaben alle negativen Seren im Versuche (mit Ausnahme einzelner stark bindender Seren) im Gemisch mit einer KE. anstatt völliger Hämolyse

eine leichte Opaleszenz, was auf einen gleichen Grad von Komplementmangel in allen diesen Gemischen hinwies.

Schlußfolgerung.

1) Die hämolytische Kraft und der Deviabilitätsgrad sind individuelle Eigenschaften des Komplements. — 2) Es ist kein Zusammenhang zwischen diesen beiden Eigenschaften festgestellt. — 3) Das Gemisch der Seren besitzt in der Regel eine höhere komplementäre Energie als die einzelnen Seren für sich. — 4) Die kleinste hämolysierende Dosis des Komplements in Gegenwart eines Gemisches von Antigen und Serum (das nicht über die Norm eigenhemmende Eigenschaften besitzen darf) ist eine für jedes Komplement konstante Größe.

Zur Frage der Bereitung von hämolytischem Serum.

[Bakteriol. Central-Staatsinstitut in Moskau (Direktor: Dr. J. Lewin).]

Von Frau Dr. **D. Borowskaja.**

Bei der Anfertigung des hämolytischen Serums sind von uns die verschiedensten Methoden der Kaninchenimmunisierung ausprobiert worden, die intraperitoneale und intravenöse, tägliche Einspritzungen In Abständen von 3—4—7 Tagen und mit anwachsenden und fallenden Dosen von einfachen wie auch sensibilisierten Erythrozyten. Es wurden auch Versuche einer unspezifischen Aktivierung gemacht durch gleichzeitige Injektion von Milch, Salzen und anderen Substanzen. Alle ausprobierten Modifikationen ergaben in gleichem Maße teils gute, teils schlechte Resultate, so daß es keine Methode gibt, die ein sicheres Gelingen der Immunisation gewährleistet. Im allgemeinen muß man zu dem Schlusse kommen, daß das Resultat der Immunisation nicht so sehr von dem Verfahren, wie von unberechenbaren individuellen Eigentümlichkeiten des Tieres abhängt.

Unser Institut hat große Quantitäten hämolytischen Serums zu bereiten, und zwar nicht nur für den eigenen Gebrauch, sondern auch für andere Laboratorien der U.S.S.R. Deshalb sind wir gezwungen, zahlreiche Kaninchen zu immunisieren, was mit einem großen Aufwand von Zeit, Arbeit und Tieren verbunden ist.

Bei der Suche nach einem Auswege haben wir anstelle der totalen die partielle Blutentnahme angewandt. Schon diese Modifikation ergab einige Ersparnis an Tieren und Arbeit. Bei totaler Entblutung ergibt ein Kaninchen ca. 40—50 ccm Serum, aber bei partieller Blutentnahme durch Herzpunktion gelingt es mitunter, dieselbe Quantität zu erhalten; gewöhnlich aber erhält man bei einer Punktion 25—30 ccm. Die

Kaninchen überstehen den Eingriff sehr leicht und sterben fast nie. So gelingt es, bei einem Kaninchen 10—12 partielle Blutentnahmen zu machen und ca. 300—400 ccm Serum zu gewinnen. Ein Kaninchen ergab uns bei einem Titer von 1:40000 im Laufe eines Jahres sogar 1500 ccm Serum.

Da aber die Tiere ausruhen müssen, ist auch das Verfahren der partiellen Blutentnahme mit der Notwendigkeit verbunden, eine ziemlich große Zahl von Tieren zu halten und sie zu beobachten, um zu geeigneten Zeiten die Immunisation zu wiederholen.

Um allen diesen Mißständen aus dem Wege zu gehen, haben wir uns entschlossen, einen Versuch zu machen, hämolytisches Serum von Pferden zu gewinnen und dasselbe in der Laboratoriumspraxis anstelle des Kaninchenserums zu verwenden. Die Immunisation wurde mit intravenösen Injektionen von gewaschenen Hammelerythrozyten vorgenommen. Da keine Erfahrungen vorlagen, so erfolgte die Immunisation ziemlich langsam, und zwar um so mehr, da mitunter Temperatursteigerungen bis zu 40° beobachtet wurden.

Datum	Eingespritzte Menge	Temperatur	Titer	Blutentnahme
2. 4. 1925	25 ccm	40,0		
18. 4. 1925	40 „	39,9	24. 4. 1:1000	
2. 5. 1925	60 „	39,8		
15. 5. 1925	70 „	40,5	15. 5. 1:1200	
21. 5. 1925	110 „	40,5	26. 5. 1:1500	
2. 6. 1925		38,2		3. 6. part. Blutentnahme 4 l
4. 6. 1925	120 „	39,5	6. 6. 1:2000	7. 6. part. Blutentnahme 2 l
6. 6. 1925		38,0		
			12. 6. 1:500	
23. 6. 1925	130 „	40,5	23. 6. 1:300	
1. 7. 1925	220 „	39,7	30. 6. 1:800	
			6. 7. 1:1000	
				7. 7. part. Blutentnahme 2 l
				8. 7. Entblutung 8 l

Der Titer stieg maximal bis 1:2000. In den Intervallen fiel er ab, durch wiederholte Immunisation gelang es aber, ihn wieder auf 1:1000 zu bringen. Das Tier wurde wegen allgemeinen Verfalls entblutet. Im ganzen erhielten wir etwa 15 l Serum.

Das Serum gibt schnell eintretende Hämolyse und ruft sogar in starken Konzentrationen keine Agglutination der Hammelerythrozyten hervor.

Große Versuchsreihen von Wassermann-Reaktionen, sowie Komplementbindung mit Gonokokken-, Echinokokken- und Tuberkuloseantigenen ergaben völlige Uebereinstimmung bei der Anwendung von Pferde- und Kaninchenserum, wobei die Kontrolle bei Anwendung von Pferdeserum häufig reiner ausfiel. Der Titer des Serums, das durch Zusatz von Glyzerin und Karbolsäure konserviert wurde, änderte sich nicht.

Abgesehen von den rein materiellen Vorteilen der Anwendung von hämolytischem Pferdeserum, scheint es uns, daß bei den derzeitigen

Versuchen, die Technik der Wassermannschen Reaktion zu unifizieren, die Anwendung von demselben Serum in mehreren Laboratorien während längerer Zeit bis zu einem gewissen Grade dazu beitragen könnte.

Was den etwas abschreckenden Uebergang zu einer anderen Tierart anbetrifft, so scheint sowohl nach unseren Erfahrungen wie auch nach denen in Amerika (Maultiere) dem nichts im Wege zu stehen.

Ueber einen Metallexsikkator zur Anaërobenzüchtung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg (Direktor: Prof. Dr. Selter).]

Von **W. Möhrke.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Plattenkultur anaërober Mikroorganismen wird zur Zeit allgemein in Exsikkatoren ausgeführt, die durch die Möglichkeit chemischer Absorption des Sauerstoffs und gleichzeitiger Luftverdünnung den Anaëroben die besten Existenzbedingungen gewähren. Zeissler gibt im Handbuch der mikrobiologischen Technik von Kraus und Uhlenhuth, Bd. 2, 1923, eine Zusammenstellung der einschlägigen Apparate und hebt hervor, daß der Exsikkator, etwa in der Form nach Maassen oder Novy, das leistungsfähigste Hilfsmittel zur Anaërobenzüchtung darstellt. Neuerdings werden vielfach aus ökonomischen Gründen Haushaltungsapparate bevorzugt, deren praktische Brauchbarkeit von Hilgers erprobt wurde. Er beschreibt einen solchen Apparat, der seit ca. 2 Jahren im Königsberger Hygienischen Institut eingeführt ist. Auch Abel konnte sich von der Zuverlässigkeit dieser Apparate überzeugen.

Daneben hat sich das Bedürfnis nach einer Schale von kleinen Dimensionen immer wieder bemerkbar gemacht, wie aus den zahlreichen, im Laufe der Zeit entstandenen Konstruktionen zu ersehen ist. Erwähnt seien nur als aus der Grundform der Lentzschen Schale sich entwickelnde Haupttypen die Schalen nach Küster, Knorr, Dreuw Löwi. Die Vorteile eines kleinen handlichen Apparates sind so oft hervorgehoben worden, daß es sich hier erübrigt, nochmals darauf einzugehen. Jedenfalls gehen die Verbesserungsbestrebungen dieser Richtung bis in die neueste Zeit fort.

Bei allen diesen Konstruktionen wurde bisher auf das Absaugen der Luft verzichtet. Man begnügte sich mit dem Verschluß durch Plastilin und der chemischen Entfernung des Sauerstoffes. Lentz nennt das Plastilin ein ideales Abdichtungsmittel. Es soll hier nicht behauptet werden, daß es für den gedachten Zweck unbrauchbar sei. Das Plastilin hat sich wohl in vielen Fällen als geeignet erwiesen. Indessen sind wohlberechtigte Zweifel am Platze, ob in allen Fällen eine unbedingt zuverlässige Abdichtung erreicht werden kann, wie aus einer

Bemerkung Hilgers hervorgeht, welcher fand, daß das Plastilin durch Wärmedehnung im Brutschrank nicht immer lufftdicht abschließt.

Ich konnte diese Angabe durch Versuche bestätigen. Eine Kulturschale, die durch ein gläsernes Ansatzrohr mit einem Heberbarometer verbunden war, wurde in Lentzscher Anordnung auf einer Glasplatte mit einem Plastilinverschluß befestigt und der Rand sorgfältig abgedichtet. Die Schale wurde dann bei 37° gehalten. Nachdem die im Innern befindliche Pyrogallol-Kalimischung den Sauerstoff absorbiert hatte, mußte das Quecksilber bei vollkommenem Abschluß dauernd auf derselben Höhe stehen bleiben. Es fand sich aber, daß in 2 von 50 Fällen, also in 4 Proz., das Quecksilber nach anfänglichem Steigen alsbald wieder sank und in kurzer Zeit zum Nullpunkt zurückgekehrt war. In allen Versuchen war dieselbe Sorgfalt beim Verstreichen beobachtet und dieselbe Quantität gleichmäßig ausgerollt worden. Es sind also bei dieser Methode gelegentlich kapillare Kommunikationen des Innenraumes der Schale mit der Atmosphäre nicht zu vermeiden. Man wird demnach, namentlich auch mit Rücksicht auf die Leistungsfähigkeit der Exsikkatoren, die Anwendung des Plastilins als absolet ansehen dürfen.

Deshalb ist es als ein Fortschritt zu begrüßen, daß Brekenfeld das Pyrogallol-Vakuumprinzip auf die Einplattenkulturschale übertragen hat. Sein Apparat besteht aus einer Glasschale, die durch den Luftdruck mittels zweier übereinandergelegter Gummiringe auf eine Glasplatte gepreßt wird. Die Schale wird nach Angabe des Autors durch eine Spezialsaugdüse, die zwischen den Gummiringen eingeführt wird, mit der Wasserstrahlpumpe evakuiert. Die Entfernung des Restsauerstoffes geschieht in üblicher Weise durch Pyrogallol-Kali.

Der Vorteil der Konstruktion besteht darin, daß hier die Kombination der chemischen und mechanischen Entfernung des Sauerstoffes möglich wird. Gleichwohl ist der Apparat nicht so bequem zu handhaben, wie die großen Exsikkatoren. Bei diesen läßt sich ohne besondere Mechanismen die Luft direkt durch ein mit Hahn verschließbares Abzugsrohr entfernen.

Es fragt sich nun, warum man bisher nicht versucht hat, kleine Exsikkatoren für die Einschalenkultur mit Hahnanschluß zu versehen. Hauptsächlich werden Gründe technischer Art dazu beigetragen haben, diese Konstruktion als verfehlt erscheinen zu lassen. Mit Rücksicht auf die Druckverhältnisse ist dickes Glas erforderlich, dessen Wandstärke nicht weniger als 5 mm betragen darf. Solche Schalen können nur aus Preßglas hergestellt werden, an denen sich ein Hahn nur schwer befestigen läßt. Ich versuchte diese Schwierigkeiten dadurch zu umgehen, daß ich einen solchen Exsikkator von kleinen Dimensionen aus Metall anfertigen ließ. Ein Ansatz mit Hahn kann an einer Metallfläche ohne weiteres befestigt werden; außerdem verringern sich die Kosten der Anfertigung.

Der Apparat, dessen Herstellung von der Firma Paul Altmann, Berlin NW, Luisenstraße 47, übernommen worden ist, besteht aus einer dünnwandigen Messingschale (cf. Figur) mit Ansatzrohr und Hahn und einer Glasplatte, die mittels Gummiring den Verschluß bewirkt. Die Maße, 12 cm Durchmesser und 3,5 cm Höhe, sind so eingerichtet, daß einerseits Petrischalen der gebräuchlichen Größen mit Deckel in dem Exsikkator Platz finden und andererseits dieser selbst als Deckel für

größere Weckgläser dienen kann, in denen dann mehrere Platten aufbewahrt werden können. Auf dem Boden der Metallschale ruht ein Blechstreifen, der die Form eines Kreuzes hat. Auf diesem Streifen wird die Kultur-Petri-Schale mit oder ohne Deckel, aufrecht oder umgekehrt gestellt.

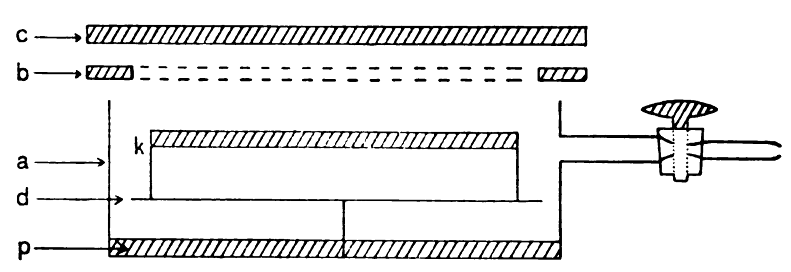


Fig. 1. *a* Metallschale mit Hahn, *b* Gummiring, *c* Glasdeckel, *d* Blechstreifen, *k* Kulturschale mit Nährboden, *p* Pyrogallol-Kaliummischung.

Vergleichende Manometerversuche ergaben, daß im Exsikkator, der geschlossene Petri-Schalen enthielt, die Sauerstoffabsorption ca. 4mal länger dauerte als in demselben leeren Exsikkator. Zudem zeigte sich, daß die Anaëroben im ersteren Falle stets schlechter wuchsen. Der Sauerstoffpartialdruck scheint sich also im Innern des mit zugedeckter Petri-Schale beschickten Apparates keineswegs völlig gleichmäßig einzustellen, so daß immer noch ein geringer Rest des Gases unmittelbar über dem Nährboden zurückbleibt. Es ist daher zweckmäßig, die Kulturschale ohne Deckel zu verwenden. Wenn man dabei die Anordnung befolgt, die in der Figur dargestellt ist, so ist die Sterilisation des Exsikkators ebenso wie bei Verwendung geschlossener Petri-Schalen unnötig. Man muß diesfalls allerdings auf die Besichtigung der Kulturen im Apparat verzichten.

Die Pyrogallol-Kalimischung kann unmittelbar auf den Boden der Schale gebracht werden, ohne daß das Metall dadurch angegriffen wird. Eine Reihe von Versuchen hat die Unbedenklichkeit dieses Verfahrens bestätigt. Sogar eine eiserne Schale erwies sich als brauchbar, obwohl das Pyrogallol als dreiwertiges Phenol die charakteristische Eisenreaktion gibt. Leider konnte der Exsikkator nicht aus Aluminium hergestellt werden, da bei Berührung dieses Metalls mit Pyrogallollösung lebhafte Gasentwicklung stattfindet.

Eine besondere Vorrichtung zur Trennung des Pyrogallols und der Kalilauge, wie sie z. B. von Hilgers und auch von Knorr beschrieben wird, ist entbehrlich. Kurz vor dem Evakuieren wird der Apparat ein wenig schief gestellt und mit ca. 20 ccm 10proz. Kalilauge beschickt. Auf den von der Flüssigkeit unbedeckten Teil des Bodens kommt eine ausreichende Quantität Pyrogallol in Substanz. Nach Absaugen der Luft und Verschluß des Hahns wird dann die Mischung durch vorsichtiges Hin- und Herbewegen vollzogen. Es ist vorteilhaft, den Gummiring mit Exsikkatorfett, z. B. gleichen Teilen Wachs und Vaseline, zu bestreichen, damit er an dem Glasdeckel in richtiger Lage haftet und beim Herumdrehen nicht herunterfallen kann.

Aus der Beschreibung ist die vielfache Verwendungsmöglichkeit des Apparates ersichtlich. Er kann erstens als kleiner Exsikkator be-

nutzt werden. Mit der Wasserstrahlpumpe ist dann leicht in 1—1½ Minuten ein Vakuum von 20—30 mm Hg zu erreichen. Die in der Praxis erzielten guten Erfolge der Anaërobenzüchtung mit dem von Hilgers angegebenen Haushaltungsvakuumapparat sind hauptsächlich dadurch bedingt, daß hier die Kombination der mechanischen und chemischen Entfernung des Sauerstoffes möglich wird. Eine weitere Vervollkommnung wird dadurch erreicht, daß die Maße meines Metallexsikkators so eingerichtet sind, das er auch als Deckel eines solchen Haushaltungsappartes benutzt werden kann. Dieser Apparat mit Metalldeckel kann vollkommen einen großen Exsikkator ersetzen. Die mechanische Entfernung des Sauerstoffes wird in einfachster Weise schnell und durch Anschluß des Metallhahnes an eine Wasserstrahlpumpe erzielt. Weiterhin ist die Füllung des Metallexsikkators mit Wasserstoff oder anderen Gasen möglich. In diesem Falle werden Schale, Gasquelle und Wasserstrahlpumpe unter Zwischenschaltung eines Manometers mit einem Dreiwegehahn verbunden. Sodann läßt man abwechselnd die Luft absaugen und Gas einströmen. Dabei ist zu beachten, daß das Absaugen schon beginnen muß, bevor der volle Atmosphärendruck im Innern der Schale herrscht, also wenn das Vakuummeter noch ca. 10—20 mm Unterdruck anzeigt, da sonst Luft in den Apparat eindringen würde. Viermaliges Absaugen genügt, um den Sauerstoff soweit zu entfernen, daß er dem Wachstum der Anaëroben nicht mehr schädlich ist. Matzuschita gibt an, daß der maximale Sauerstoffgehalt für Anaërobier 0,0031 p. m. betragen darf. Bei vierfacher starker Verdünnung ist aber bereits ein Sauerstoffgehalt von ca. 0,0004 p. m. erreicht.

Ferner kann der Apparat als Lentzsche Schale benutzt werden, wenn man auf den Boden ein Material von genügender Elastizität, z. B. Watte, bringt, welches die offene Kulturschale gegen den Glasdeckel drückt. Zwischen diesem und dem freien Rand der Kulturschale wird ein mit alkoholischer Pyrogallollösung getränkter Fließpapierring mit zentraler Bohrung gelegt. Es ist nicht erforderlich, daß man nach dem Vorgange von Lentz dicke Filzscheiben verwendet. Ein Ring aus einfachem Fließpapier, der den Dimensionen der Schale angepaßt ist, vermag bequem ca. 1 g Pyrogallol zu fassen. Nach Befeuchtung des Ringes mit Kalilauge kann nach Belieben evakuiert werden. Endlich besteht noch die Möglichkeit, den Apparat auch ohne Wasserstrahlpumpe zu gebrauchen. Durch Absaugen mit dem Munde läßt sich ein Vakuum von ca. 300—350 mm Hg erreichen. Bei diesem Verfahren muß natürlich eine etwas größere Quantität Pyrogallol genommen werden.

Ueber die Dosierung des Pyrogallols finden sich in einer neueren Arbeit von van Riemsdijk ausführliche Angaben. 3 ccm einer 44-proz. Pyrogallollösung in bestimmter Weise mit 20proz. Kalilauge gemischt sollen optimale Absorptionsbedingungen für einen Luftraum von 400 ccm schaffen. Pesch und Gottschalk, die auf den Angaben von van Riemsdijk fußen, erzielten mit 1,5 g Pyrogallol in Küsterscher Schale, deren Rauminhalt etwa dem des Metallexsikkators entspricht, gutes Wachstum des Tetanus. Die Ausführungen von van Riemsdijk haben wohl mehr theoretischen als praktischen Wert. Nach meinen Erfahrungen, die die Richtigkeit des allgemein üblichen empirischen Verfahrens bestätigen, ist für das Ergebnis nicht so sehr die

besondere Zusammensetzung der Absorptionsflüssigkeit, als vielmehr ein Ueberschuß an Pyrogallol maßgebend.

Der Metallexsikkator hat sich bereits in einer Reihe von Versuchen als praktisch brauchbar erwiesen. Ich konnte mit Erfolg einige Tetanus- und Botulinusstämme, sowie einige Stämme des malignen Oedems und Fränkelschen Gasbrandbazillus züchten, für deren Ueberlassung ich dem Institut „Robert Koch“, dem Breslauer und Kieler Hygienischen Institut und Herrn Dr. Zeißler zu Dank verpflichtet bin.

Ich möchte zum Schluß noch einige Angaben aus den Versuchsprotokollen über das Wachstum der einzelnen Stämme auf der Zeißlerschen Traubenzuckerblutagarplatte bringen. Es wurden 10 Blutplatten nach der Zeißlerschen Originalvorschrift hergestellt, 5 davon im Metallexsikkator, die anderen im Hilgerschen Haushaltungsapparat bebrütet. Jede Platte wurde 3 Tage lang im Brutschrank gehalten. Der Metallexsikkator wurde mit 1 g Pyrogallol und 10 ccm 10proz. Kalilauge beschickt, der Hilgersche Apparat dem Raumverhältnis entsprechend mit einer demgemäß berechneten größeren Menge beider Chemikalien. Die im Haushaltungsapparat bebrüteten Platten sind mit römischen, die anderen mit arabischen Ziffern bezeichnet. Jede Platte wurde in drei Sektoren geteilt, Platte I und 1 mit Tetanus, Botulinus und Putrificus beimpft. Das Wachstum des Tetanus war auf I und 1 gleichmäßig spärlich. Es zeigten sich nur vereinzelte kleine Kolonien. Dasselbe Ergebnis wurde bei Tetanus auf den Platten II—V 2—5 erzielt. Die einzelnen Kolonien des Putrificus und Botulinus waren auf 1 deutlich größer ausgewachsen, als auf I, die Impfstriche auf 1 mit viel zahlreicheren Kolonien besetzt, als auf I. Platte II und 2 waren neben Tetanus mit Botulinus und malignem Oedem beimpft. Unterschied in der Wachstumsintensität waren bei beiden Platten nicht zu bemerken. Platte III und 3 enthielt Putrificus und Gasbrand. Der Gasbrand zeigte auf 3 besseres Wachstum als auf III und hatte sich flächenförmig über einen großen Teil der Platte verbreitet. Putrificus bot auf III und 3 gleiche Wachstumsintensität. Platte IV und 4 war mit Botulinus und malignem Oedem beimpft. Letzterer Stamm war besser auf IV als auf 4 gewachsen. Bei dem Botulinusstamm waren keine merklichen Unterschiede auf beiden Platten zu bemerken; er zeigte gleichmäßig gutes Wachstum. Platte V und 5 enthielt Putrificus und malignes Oedem. Auf beiden Platten waren die Kolonien sowohl der Zahl als auch der Größe nach gleichmäßig gut und besonders schön entwickelt. Einzelnstehende Kolonien hatten sich bis zu einem Durchmesser von ca. 3—4 mm entwickelt. Sie waren schwer abhebbar, hatten sich in den Boden eingefressen und boten mit ihrer gekörnten Oberfläche und dem strahligen Rande das typische Bild anaërober Kolonien.

Auch diese Versuche erbringen einen Beweis dafür, daß einerseits der Haushaltungsapparat nach Hilgers eine wertvolle Bereicherung der Anaërobentechnik bildet und daß andererseits der Metallexsikkator ebenfalls mit Vorteil zur Anaërobenzüchtung verwendet werden kann.

Literatur.

1) Abel, Bemerkungen zu dem vorstehenden Aufsatze von Privatdoz. Dr. Hilgers über die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung. I. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924.) — 2) Brekenfeld, Zur Technik der Anaërobenzüchtung. I. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924.) —

3) Dreuw, Vereinfachtes anaërobes Plattenverfahren. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904.) — 4) Hilgers, Die Verwendung der Haushaltungsvakuumapparate in der Technik der Anaërobenzüchtung. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924.) — 5) Knorr, Beiträge zu bakteriologischen Kulturmethoden. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921.) — 6) Küster, Ein einfacher Apparat zur anaëroben Züchtung und eine Vorrichtung zur einwandfreien Entnahme von Untersuchungsmaterial aus der Tiefe von Körperhöhlen. (Ibid. Abt. I. Ref. Bd. 57. 7. Tagung d. freien Vereinig. f. Mikrobiol. 1913).] — 7) Lentz, Ein neues Verfahren für die Anaërobenzüchtung. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910.) — 8) Löwi, Zur Technik der Anaërobenkultur mittels des Pyrogallolverfahrens. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1919.) — 9) Matzuschita, Zur Physiologie der Sporenbildung der Bazillen nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. (Arch. f. Hyg. Bd. 43. 1902.) — 10) Van Riemsdijk, Ueber einen neuen einfachen Sauerstoffindikator für die Züchtung von anaëroben Bakterien und die Kultur von Anaërobionten im allgemeinen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922.) — 11) Pesch u. Gottschalk, Ueber den Sauerstoffbedarf der Corynebakterien. (Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924.)

Inhalt.

Alivisatos, G. P., Neue Erfahrungen bei der Schutzimpfung gegen Lyssa durch das ätherisierte „Virus fixe“, S. 394.

—, u. **Jovanovic, M.**, Experimenteller Beitrag zur peroralen Immunisierung des Kaninchens gegen Ruhr, S. 311.

Aoki, K., Ueber die agglutinatorische Analyse von Bakterien, S. 273.

Borowskaja, D., Zur Frage der Bereitung von hämolytischem Serum, S. 425.

Declich, Melchiorre, Zur Biochemie der Meningokokken, S. 354.

Elkeles, Gerhard, Ueber Paratyphus und Fleischvergiftung. Experimentelle Untersuchungen zum Kulturbild und zur Pathogenität mit besonderer Berücksichtigung der Kieler Lehre. Mit 4 Abbildungen und 1 Kurve im Text, S. 326.

Engelmann, Br., Weiterer Beitrag zur Frage der Einheit der Pneumokokken und Streptokokken, S. 304.

Fränkel, G. M., u. **Jolkwer, E. E.**, Analyse der hämolytischen Deviabilitätseigenschaften des Komplements, S. 419.

Hayashi, T., Ueber Variationserscheinungen unseres neuen Paratyphusstammes (Sasaki-Stamm), S. 282.

—, Ueber Paratyphus C. I. Mitteilung: Ueber die agglutinatorischen Beziehungen des Paratyphus C (Hirschfeld) einerseits und des atypischen Paratyphus A (Aoki) und der Hogcholerabazillen andererseits, S. 291.

—, Ueber Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld). II. Mitteilung: Ueber die Variationserscheinungen der Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld), S. 296.

Hayashi, T., Ueber Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld). III. Mitteilung: Ueber einen atypischen Paratyphusbazillenstamm, welcher in Japan nachgewiesen war, S. 300.

Jelin, W., Studien über den Mechanismus der natürlichen Immunität. IV. Mitteilung, S. 411.

Kalmykowa, M., u. **Glusmann, M.**, Ueber den Nachweis virulenter Diphtheriebazillen durch die Intrakutangabe an Meerschweinchen mit der Ausgangsmischkultur, S. 308.

Mayer, Georg, Corynebacterium parvum infectiosum. Mit 1 Abbildung im Text, S. 370.

—, Zur Behandlung bakteriämischer und peritonitischer Erkrankungen, S. 372.

Messerli, Fr. M., Contribution à l'étude de l'étiologie du goitre endémique. Goitres expérimentaux produits chez des rats blancs par alimentation avec de l'eau infectée. Avec 49 figures dans le texte. S. 378.

Möhrke, W., Ueber einen Metallexsikkator zur Anaërobenzüchtung. Mit 1 Abbildung im Text, S. 427.

Saito, T., Geflügelpockenkörperchen und Guarnierische Körperchen, S. 391.

Schmitz, Hermann, Bakteriologische Untersuchungen von Harn, Galle und Duodenalsaft, S. 407.

Simohowitz, Hermann, Ein hämolysierendes Bacterium coli mutabile. Mit 1 Abbildung im Text, S. 278.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5454

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 98. Heft 7/8.

Ausgegeben am 7. Juni 1926.

Ueber die Gewinnung von Bakteriophagen aus Pankreasextrakten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. Oskar Bail).]

Von **Friedrich Hoder** und **Kiyoshi Suzuki.**

Bei den experimentellen Untersuchungen über das Wesen des d'Herelleschen Agens wurden immer wieder Versuche unternommen, Bakteriophagen aus Bakterienkulturen herzustellen. Jötten (Klin. Wochenschr. 1922. Nr. 44) berichtet, daß es ihm gelungen sei, aus ursprünglich bakteriophagenfreien Kulturen durch Zusatz von Trypsin Bakteriophagen zu erzeugen. Borchard (Ibid. 1923. Nr. 7) fühlte sich auf Grund seiner Experimente sogar zu der Behauptung veranlaßt, daß dem inaktivierten Trypsin des Pankreas die bakterienauflösende Rolle zukomme. Dagegen konnte er eine Wirksamkeit der käuflichen Trypsinpräparate nicht feststellen.

Wir selbst konnten in einem käuflichen Präparat, dem „Pankreon", Bakteriophagen nachweisen und untersuchten daraufhin systematisch sowohl das käufliche Präparat, wie auch frische Drüsensubstanz auf ihren Bakteriophagengehalt, um auf diesem Wege zu einer Methode der Bakteriophagengewinnung zu gelangen, die einfacher und sicherer ist, als die bisher gebräuchliche der Filtrierung von Stühlen.

Versuchsanordnung: 2 ccm Bouillon wurden mit etwa dem fünften Teil einer Messerspitze „Pankreon" versetzt und kräftig geschüttelt. Das Pulver löst sich in Brühe nicht, es wird durch das Schütteln lediglich eine Emulsion erzeugt. Nach längerem Stehen sinken die einzelnen Teilchen wieder zu Boden und die überstehende Flüssigkeit wird fast klar. Die einzelnen Röhrchen kamen für $^1/_2$ Std. in ein Wasserbad von 58—60°. Diese Temperatur genügt vollständig, um die Mehrzahl der vorhandenen Bakterien abzutöten, oder doch derartig zu schädigen, daß eine wesentliche Vermehrung bei der folgenden Bebrütung nicht in Betracht kommt. Darauf erfolgte die Beimpfung jedes Röhrchens mit den verschiedenen Keimen aus frischen Brühekulturen und 10- bis 20stünd. Bebrütung bei 37°. Die angegebene Zeit genügt vollauf, um eventuell vorhandene Bakteriophagen zu ausgiebigster Vermehrung zu bringen. Die bewachsenen Röhrchen wurden darauf wiederum bei 58—60° sterilisiert, darauf je eine Oese mit einer Oese frischer Bouillonkultur der betreffenden Bakterien auf 0,9proz. Agar ausgestrichen. Bei sehr starker Trübung der Röhrchen ist es angezeigt, sie vor der Sterilisierung zu zentrifugieren. Man riskiert dabei keinen wesentlichen Verlust an Bakteriophagen. Vorsichtiger muß man bei der Filtrierung sein. Es ist bekannt, daß durch den Filtrationsprozeß eine erhebliche Menge Bakteriophagen von den Filtern zurückgehalten wird, so daß sie sich bei einer von vornherein

geringeren Konzentration unter Umständen ganz dem Nachweis entziehen können.

Wir erhielten durch die angegebene Methode 17 verschiedene Bakteriophagen. Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf die Dysenterien Shiga, Flexner, Y, je 1 Typhus und Paratyphus B und die 3 alten Laboratoriumstämme Coli Cord, Kraus und Pferd. Gegen jeden der genannten Keime konnten wir schon beim ersten Versuch Bakteriophagen erhalten. Wir untersuchten nun weiterhin die Wirksamkeit des „Pankreons" auf eine Reihe verschiedener Coli und Paracoli-Stämme und auf einige paratyphusähnliche Stämme, die wahllos teils aus Stühlen, teils aus Wasser gezüchtet wurden und erhielten in 35—40 Proz. der Fälle positive Resultate. Unter anderem erhielten wir ohne Schwierigkeiten Bakteriophagen gegen Stämme, die sich unseren bisherigen Lysinen gegenüber refraktär verhielten und gegen die wir auch auf anderem Wege Bakteriophagen zu gewinnen nicht imstande waren. Besondere Erwähnung verdient ein Bakteriophage, der äußerst stark gegen den verwendeten Typhusstamm wirkt, sich mit ihm optimal vermehrt und vor allem durch seine geringe Wirkungsbreite auffällt. Er wirkt auf keines der verwendeten Bakterien, mit Ausnahme eines aus Menschenstuhl stammenden Coli-Stammes, der sonst alle Eigenschaften des normalen Coli commune aufweist.

Die Bakteriophagen sind nicht näher untersucht worden, lediglich ihre Wirkungsbreite gegenüber den verwendeten Bakterien wurde bestimmt, und auf deren Grundlage erfolgte die Differenzierung in 17 verschiedene Stämme.

Während sonst aus Stühlen stark wirksame Typhus- und Paratyphusbakteriophagen bisher nur selten zu gewinnen waren, gelang uns der Nachweis der genannten Bakteriophagen im „Pankreon" leicht. Wir fanden 2 auf Typhus sehr stark wirksame Bakteriophagen. Davon ist der eine der oben erwähnte, der andere wirkt nebenbei auch auf Paratyphus B, aber nur relativ schwach. Die übrigen Keime greift auch der zweite Bakteriophage nicht an. Außerdem konnten wir einen polyvalenten Bakteriophagen mit schwacher Wirkung auf Typhus nachweisen. Gegen Paratyphus B fanden wir einen hochwirksamen Bakteriophagen, der sich als polyvalent erwies. Er beeinflußt in starker Weise eine ganze Reihe von Bakterienstämmen. Außerdem fanden sich 2 Bakteriophagen mit schwacher Nebenwirkung auf Paratyphus B.

Shiga-Dysenterie bewahrte auch in unseren Versuchen die dominierende Empfindlichkeit, daneben auch der Coli-Stamm Cord. Je 10 der gefundenen Bakteriophagen wirken entweder auf Shiga- oder auf Coli Cord, davon einige gleichzeitig.

Bei den nur auf 1 oder 2 Stämme wirksamen Bakteriophagen dürfte es sich um Reinkulturen handeln. Dagegen muß die große Mehrzahl der polyvalenten Formen wohl unter die Mischbakteriophagen eingereiht werden. Wir unterließen den Versuch einer Trennung, da er einerseits zu zeitraubend ist, andererseits unser Augenmerk bei den vorliegenden Versuchen auf ein anderes Ziel gerichtet war.

Der Versuch mit „Pankreon" hatte ergeben, daß das Pulver eine ungewöhnlich große Menge von Bakteriophagen zu liefern imstande war, die den Bakteriophagenreichtum von Stuhlfiltraten weit übertrifft.

Wir versuchten nun, von der Voraussetzung ausgehend, daß die Bakteriophagen a priori in dem „Pankreon" vorhanden sind und nicht etwa durch das Zusammentreffen von Fermenten mit den Bakterien

in Brühe entstehen, die Bakteriophagen direkt auf der Platte nachzuweisen. Wir verrieben zu diesem Zwecke etwa 2 g Pankreon in 10 ccm Bouillon zu einer feinen Emulsion, sterilisierten sie bei 60° und gossen 5 Röhrchen 2proz. Agars mit je 2 ccm der Pankreonbrühe zu Platten aus. Die Platten wurden in Sektoren geteilt und jeder Sektor mit einer Oese Brühekultur von Shiga, Flexner, Y, Coli-Cord, Kraus und Pferd derart bestrichen, daß ein Rasen aufgehen mußte. Die nach 24 Std. vorgenommene Untersuchung der Platten ergab, daß nur in 2 Rasen, beide Male bei Coli Pferd, sich Löcher fanden, das eine Mal ein einziges, das andere Mal 2 kleine Löcher von der gewöhnlichen Form. Die Abimpfung ergab einen starken Bakteriophagen. Ein vollkommen negatives Resultat hatte der Versuch, im direkten Asstrich (eine Oese Brühekultur mit einer Oese Pankreonaufschwemmung) Löcher zu erzeugen. Dagegen gelang es in zwei Fällen von den Rasen, die keine Löcher zeigten, durch reichliche Abimpfung in Brühe und nachfolgende Bebrütung Bakteriophagen zu gewinnen, ein Zeichen, daß die Bakteriophagen wohl da waren, aber offenbar gebunden an organische Bestandteile des „Pankreons", die auf Agar die Wirkung des Bakteriophagen unmöglich machen, während im flüssigen Medium durch das Freiwerden einzelner Bakteriophagen die darauffolgende reichliche Vermehrung auf Kosten der sensiblen Keime erfolgt.

Nahmen wir von der Aufschwemmung, die für die Platten benützt wurde, je eine Oese, setzten sie Bouillon zu, und behandelten sie in der eingangs beschriebenen Weise, so erhielten wir schon nach 6 Std. einen Bakteriophagengehalt der Röhrchen, der bei den Dysenterien, und bei einzelnen Coli-Stämmen keine Rasenbildung mehr zuließ.

Da das käufliche „Pankreon" sich als eine so ergiebige Quelle zur Auffindung von Bakteriophagen erwiesen hatte, schritten wir an die Untersuchung frischer, tierischer und menschlicher Bauchspeicheldrüsen, und zwar untersuchten wir Pankreas von Schwein, Rind, Meerschweinchen, Kaninchen, Huhn und Mensch. Die Untersuchungen erstreckten sich auf die Dysenteriestämme Shiga, Flexner und Y, auf Typhus und Paratyphus B, und die Coli-Stämme Cord, Kraus und Pferd. Wir arbeiteten mit einem Kochsalzextrakt, der in folgender Weise gewonnen wurde:

Ein Stück einer frischen Bauchspeicheldrüse, eventuell bei den Drüsen kleiner Tiere das ganze Organ, wurde mit dem Messer sorgfältig zerkleinert und darauf in der Reibschale zu einem dicken Brei verrieben, der mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurde. Der Organbrei wurde 24 Std. in der Kälte extrahiert. Darauf schritten wir zum Versuch, indem wir die überstehende, leicht trübe, manchmal fleischfarbene Flüssigkeit abpipettierten und abgestufte Mengen (am besten erwies sich eine Extraktmenge von $^1/_2$ ccm) zu 2 ccm Brühe zusetzten. Da die Bauchspeicheldrüsen großer Tiere nicht steril zu erhalten waren, erhitzten wir die Röhrchen $^1/_2$ Std. auf 60°. Bei steril entnommenem Pankreas und steriler Verarbeitung erübrigt sich die Erwärmung. Uebrigens setzt die mäßige Erhitzung den Bakteriophagengehalt der Extrakte nicht herab. Wir stellten eine ganze Reihe von Parallelversuchen an, an deren Hand wir die Harmlosigkeit der Erwärmung auf 60—65° nachweisen konnten. Wir führen einen der Versuche im folgenden an.

Je 2 ccm Brühe wurden mit 0,5 ccm Schweinepankreasextrakt

versetzt. 4 Röhrchen blieben unerhitzt, von den übrigen wurden je 4 $^1/_2$ Std. auf 60, 70 und 80° erhitzt.

	Shiga	Flexner	y	Coli Cord
unerhitzt	+++	+++	+++	+++
60°	+++	+++	+++	+++
70°	+++	+++	+++	+++
80°	—	—	—	—

Es zeigte sich also erst bei 80° eine bakteriophagenhemmende Wirkung der Erhitzung. Allerdings ist eine Erwärmung von längerer Dauer auf mehr als 60° nicht angezeigt, denn es gibt Bakteriophagen, die empfindlicher sind als der Durchschnitt. Wir selbst beobachteten, daß ein Shiga-Bakteriophage bei einer zufälligen, $^1/_2$stünd. Erwärmung auf 65° in dem betreffenden Röhrchen, das Pankreasextrakt enthielt, nicht mehr nachzuweisen war.

Mit den sterilisierten Röhrchen verfuhren wir in der bereits geschilderten Weise.

Wir untersuchten 5 Bauchspeicheldrüsen von Schweinen, und konnten einen auffälligen Reichtum des Schweinepankreas an Bakteriophagen feststellen. Es wurden in allen Extrakten Bakteriophagen gegen die drei Dysenterien und gegen einzelne Coli-Stämme nachgewiesen.

Ebenso gelang es uns, in 3 Bauchspeicheldrüsen von Rindern jedesmal Bakteriophagen aufzufinden und weiterzuzüchten.

Während die bisher genannten Bauchspeicheldrüsen aus dem Schlachthause bezogen werden mußten, und daher selbstverständlich verunreinigt waren, entnahmen wir Hühner- und Meerschweinchenpankreas steril unmittelbar nach dem Tode der Tiere und verarbeiteten es unter Beobachtung aller Sterilitätskautelen. Die Untersuchung ergab einen großen Reichtum des Hühnerpankreas an Bakteriophagen, dagegen Bakteriophagenfreiheit der Meerschweinchendrüsen[1]). Eine weitere Untersuchung von 5 Bauchspeicheldrüsen von Menschen mit gleichzeitiger Untersuchung der Stuhlproben, die dem Dickdarm der Leichen entnommen worden waren, ergab Bakteriophagenfreiheit des Stuhles wie des Drüsenextraktes in 4 Fällen. In einem fünften Pankreasextrakt fanden sich dagegen überraschenderweise ein Shiga- und ein Coli-Cord-Bakteriophage, während in dem gleichzeitig untersuchten Stuhlfiltrate Bakteriophagen auch in $^1/_2$ ccm nicht nachweisbar waren.

Wir konnten feststellen, daß jedes bakteriophagenhaltige Pankreas quantitativ verschiedene Mengen an Bakteriophagen von spezifischer Wirksamkeit enthielt.

Deutlich beleuchtet das folgender Versuch:

Je 4 Röhrchen wurden mit absteigenden Mengen Schweinepankreasextrakt versetzt (0,5 ccm, 0,2 ccm, 1 Tropfen und 1 Oese). Darauf

	0,5 ccm	0,25 ccm	1 Tropfen	1 Oese
Shiga	+++	+++	+++	+++
Flexner	+++	+++	+++	—
Y	+++	—	—	—
Coli Cord	+++	+++	+++	+++

1) A. G. Kuttner berichtet, daß es ihr gelungen sei, aus Leber und Dünndarm von Meerschweinchen mittels Glyzerinextraktion Typhusbakteriophagen zu erhalten. (Society for Exper. Biol. a. Med. 1921, p. 222—225.)

$^1/_2$ Std. bei 60° erhitzt, abgekühlt und mit Shiga, Flexner, Y und Cord beimpft.

Der Versuch zeigt, daß in diesem Falle in einer Oese noch mindestens 1 Bakteriophage vorhanden gewesen sein muß, der imstande war, Shiga und Coli Cord anzugreifen. Dieselbe Oese enthielt aber keinen Bakteriophagen mehr, der Flexner-Dysenterie anzugreifen vermochte. Weiter waren Bakteriophagen, die sich mit Y vermehren können, in dem Extrakt nur in sehr geringer Menge vorhanden, so daß in einer geringeren Menge als 0,5 ccm die Bakteriophagenwirkung schon ausblieb.

Nun ist es bekannt, daß gerade das Pankreas eine große Anzahl von Fermenten sezerniert, von denen wir heute erst einen geringen Bruchteil kennen. Es könnte also der Einwand erhoben werden, daß es sich bei der Bakteriophagenwirkung um eine Fermentwirkung handle. Die Bakterien werden in der Brühe angedaut und es kommt in dem flüssigen Nährmedium zur Bildung von Bakteriophagen, die sich dann selbständig weiter vermehren.

Wir gingen nun von der Ueberlegung aus, daß, wenn es sich wirklich um Fermentwirkung handelt, die gleiche Menge des Fermentes unter sonst gleichen Bedingungen den gleichen Effekt auslösen müsse. In dem Extrakt muß das Ferment gleichmäßig verteilt sein, denn es ist nicht anzunehmen, daß in einem Kubikzentimeter mehr, in einem anderen weniger Ferment vorhanden ist. Wenn es sich in dem obigen Versuch um die Wirkung eines Fermentes handelte, müßte also z. B. 0,5 ccm Extrakt immer Bakteriophagen erzeugen, 0,25 ccm dagegen oder gar geringere Mengen nicht mehr. Handelt es sich aber nicht um Fermente, sondern um von vornherein in dem Extrakt vorhandene Bakteriophagen, so mußten sie in dem Extrakt als suspendierte feinste Teilchen, vielleicht an Eiweißmoleküle gebunden, vorhanden sein.

Die Erscheinung, daß mit 0,5 ccm des Extraktes noch Bakteriophagenwirkung zu erzeugen wäre, mit 0,25 ccm dagegen nicht mehr, wäre dann dadurch zu erklären, daß die Bakteriophagenkonzentration in der Flüssigkeit sehr gering war, daß also in 0,5 ccm noch ein oder mehrere Bakteriophagen enthalten waren, in 0,25 ccm dagegen nicht mehr. Zerlegt man nun den halben ccm in geringere Mengen, etwa in Tropfen, so muß bei Bestätigung dieser Annahme unter mehreren bakteriophagenfreien Tropfen wenigstens einer bakteriophagenhaltig sein und dieselbe Wirkung hervorrufen können, wie 0,5 ccm des Extraktes.

2 Tropfen des Extraktes, der zu Versuch 2 verwendet wurde, wurden in 1 ccm Brühe gegeben, von dort je 2 Tropfen in Röhrchen zu je 2 ccm Bouillon, so daß der ganze Kubikzentimeter aufgeteilt wurde. Darauf, nach vorheriger Erwärmung, erfolgte die Beimpfung der Röhrchen mit Coli Cord. Als Kontrolle diente ein Röhrchen, das mit 2 Tropfen des konzentrierten Extraktes versetzt worden war.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	K
—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Das Ergebnis zeigt, daß tatsächlich 3 Röhrchen ohne Bakteriophagenwirkung blieben. Die Verdünnung war so stark, daß in 2 Tropfen nicht mehr unbedingt ein Bakteriophage enthalten sein mußte. Noch deutlicher ist der folgende Versuch:

1 ccm desselben desselben Extraktes wurde in einzelne große Tropfen verteilt und in 8 Röhrchen zu je 2 ccm Brühe zugesetzt, darauf Behandlung wie oben, aber Beimpfung mit Y. Als Kontrolle 0,5 ccm Extrakt + 2 ccm Brühe.

1	2	3	4	5	6	7	8	K
+++	—	—	—	—	—	—	—	+++

Es zeigte sich, daß nur ein einziges der Röhrchen Bakteriophagen enthielt, während in den übrigen normale Dysenterie Y wuchs.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß es sich offenbar nicht um eine Fermentwirkung in den Bouillonröhrchen handelt, mit sekundärer Entstehung von Bakteriophagen. Die Bakteriophagen sind vielmehr in dem Extrakt und damit auch im Pankreas von vorherein vorhanden. Die beiden Versuche beweisen, daß es sich um eine Suspension kleinster, korpuskulärer Elemente handelt, und zwar offenbar um verschiedenartige. Die Differenzierung geht aus den Unterschieden in der Menge der Extraktflüssigkeit hervor, die den verschiedenen Bakterien zugesetzt werden muß, um Bakteriophagenwirkung zu erzielen.

Auf welche Art die Bakteriophagen in das Pankreas gelangen, können wir nicht entscheiden. Die Möglichkeit einer Infektion vom Darm aus, besonders einer agonalen Infektion, muß zugegeben werden. Dagegen spricht aber der Umstand, daß das Hühnerpankreas bakteriophagenhaltig war, obzwar es unter aseptischen Kautelen entnommen wurde, und weiter der eine Fall von bakteriophagenhaltigem Menschenpankreas, bei Bakteriophagenfreiheit des Dickdarminhaltes.

Die Bakteriophagenhaltigkeit der Bauchspeicheldrüsen ist annähernd dem Bakteriophagengehalt der betreffenden Tierstühle. Der Schweinestuhl ist stark bakteriophagenhaltig, ebenso Hühnerstuhl. Auch Rinderstuhl enthält meist Bakteriophagen. Dagegen sind in menschlichen Stuhlfiltraten negative Befunde keine Seltenheit. Allerdings ist uns kein Fall von so großem Bakteriophagenreichtum eines Stuhlfiltrates bekannt, wie ihn die Schweinebauchspeicheldrüsen, die wir in mehreren Versuchen verwendeten, durchweg aufwiesen. Nur einmal gelang es Matsumoto, aus einem Hühnerstuhl mehr als 10 Bakteriophagen zu isolieren. In Meerschweinchenstühlen konnten wir trotz wiederholter Untersuchungen Bakteriophagen gegen unsere Laboratoriumsstämme nicht finden. Und auch das negative Verhalten der menschlichen Bauchspeicheldrüsen steht in einem parallelen Verhältnis zu der Bakteriophagenfreiheit der betreffenden Stühle.

Erwähnt sei, daß wir dieselbe Menge Stuhlfiltrat wie Extrakt, also 0,5 ccm, verwendeten, so daß das Ergebnis bedeutend genauer ist, als das der sonst bei uns gebräuchlichen Untersuchungstechnik der Stühle, die sich mit einer Oese Filtrat im direkten Aufstrich mit Bakterien auf Agar begnügt.

Wir betonen, daß unsere Versuche die Schlüsse Jöttens und Borchards nicht bestätigen. Wir glauben im Gegenteil nachgewiesen zu haben, daß dem Trypsin keine Rolle bei der Bakteriophagenwirkung zukommt.

Wir betrachten das Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen als einen neuen Weg zur Auffindung von Bakteriophagen, der sich von den bisher gebräuchlichen, die Bakteriophagen aus Stuhlfiltraten

zu gewinnen, in einigen, wie wir glauben, nicht unwesentlichen Punkten unterscheidet. Erstens ist es weitaus einfacher, das käufliche „Pankreon", oder tierisches Pankreas, am besten von Schweinen zu verwenden, zweitens ist die Wahrscheinlichkeit eines positiven Ergebnisses fast zur Sicherheit geworden, wobei noch die große Ergiebigkeit der Pankreasextrakte als Bakteriophagenfundstelle ins Gewicht fällt, während man bei Stuhlfiltraten, vor allem bei den bisher fast ausschließlich verwendeten menschlichen Dejekten, mit einer großen Zahl von Fehlschlägen rechnen muß. Und endlich ist das Arbeiten mit Pankreasextrakt, resp. mit Pankreonaufschwemmung wesentlich angenehmer als die Behandlung von Stühlen.

Zusammenfassend möchten wir sagen, daß sich die Methode der Pankreonaufschwemmungen und der Extrahierung tierischer Bauchspeicheldrüsen, vor allem von Schweinen, zur Bakteriophagengewinnung vortrefflich eignet und eine weit größere Ausbeute liefert, als das bisher gebräuchliche Filtrieren von Stühlen.

Studien zur Frage der serologischen Einheitlichkeit der Coli-Bazillen.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung (Dr. Kurt Meyer) und der I. Inneren Abteilung (Geh. Sanitätsrat Prof. Dr. L. Kuttner) des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.]

Von Dr. **W. Löwenberg,**

Oberarzt der I. Inneren Abteilung.

Im Gegensatz zu der früher herrschenden Ansicht von der serologischen Uneinheitlichkeit der Coli-Bazillen, die Paltauf (1) dahin zusammenfaßt, daß es „beim Bacterium Coli ausgeschlossen sei, die Agglutination zur Identifizierung und Zugehörigkeit einer Gruppe zu verwenden", hatten Kurt Meyer und ich (2, 3) vor einiger Zeit nachweisen können, daß zunächst die hämolytischen Colistämme von Urininfektionen sowie solche aus dem Darmkanal Gesunder und Kranker eine agglutinatorisch einheitliche Gruppe bilden, und daß ferner auch die pathogenen nichthämolytischen Coli-Stämme durch den Besitz gemeinsamer Rezeptoren miteinander verbunden sind.

Bestätigt wurde unsere Anschauung von der serologischen Einheitlichkeit der Coli-Bazillen durch mehrere inzwischen erschienene Arbeiten von Bitter und Gundel (4), die ebenfalls zu dem Schluß kamen, daß die verschiedenen Typen der Coli-Gruppe untereinander eine serologische Verwandtschaft zeigen.

In Fortführung unserer damaligen Untersuchungen haben wir an einem Falle I (Clemenz) von Coli-Sepsis die Frage erneut studiert, wieweit die aus dem Blut, Urin und Stuhl eines solchen Kranken

gezüchteten Coli-Stämme miteinander serologisch verwandt sind.

Es handelte sich um einen 44jährigen Patienten, der plötzlich unter schwersten Allgemeinerscheinungen mit Fieber und Schmerzen im Rücken erkrankt war. Im Blut und Urin fanden sich reichlich hämolytische Coli-Bazillen. Der Harnsedimentbefund ergab massenhaft Leukozyten und Erythrozyten.

Sowohl Blut- wie Urinstamm wurden vom Patientenserum in einer Verdünnung von je 1:1000 agglutiniert, Kontrollen mit Normalserum fielen negativ aus. Ein hämolytischer sowie ein nichthämolytischer Coli-Stamm aus dem Stuhl des Kranken wurden bei der erstmaligen Untersuchung vom Krankenserum nicht ausgeflockt. Dagegen agglutinierte dieses mehrere Wochen später einen neu gewonnenen hämolytischen Stuhlstamm in Höhe von 1:200, während ein nichthämolytischer Stamm aus dem Stuhl wieder unbeeinflußt blieb.

Es ging aus diesen Untersuchungen hervor, daß die hämolytischen Coli aus dem Blut, Urin und Stuhl desselben Patienten serologisch eng miteinander verwandt waren, während sich für die nichthämolytischen Stämme auf diesem direkten Wege keine verwandtschaftlichen Beziehungen zu den hämolytischen nachweisen ließen.

In unserer früheren Arbeit hatten wir nun feststellen können, daß indirekt im Tierversuch auch zwischen nichthämolyschen Coli von Urininfektionen serologische Zusammenhänge insofern zu erkennen waren, als die mit nichthämolytischen Stämmen hergestellten Immunsera zahlreiche hämolytische Coli unter vielfachem Uebergreifen agglutinierten. Wir zogen hieraus den Schluß, „daß die nichthämolytischen Stämme im latenten Zustand Rezeptoren besitzen

Tabelle I.

	I.-S. 50 (von hämol. Blutstamm)	I.-S. 51 (von hämol. Stuhlstamm)	I.-S. 52 (von nichthämol. Stuhlstamm)
	Eigentit. 1:2000	Eigentit. 1:5000	Eigentit. 1:2000
Hämol. Urinstamm vom 8. 10.	1:500	1:50	1:50
„ „ „ 11. 10.	1:1000	1:1000	—
„ „ „ 8. 11.	1:1000	1:500	1:100
„ „ „ 20. 11.	1:50	1:50	1:50
„ „ „ 25. 11.	1:1000	1:200	1:50
„ „ „ 28. 11.	1:1000	1:500	1:1000
„ „ „ 5. 12.	1:1000	1:500	1:100
Hämol. Stuhlstamm vom 3. 10.	1:50	—	—
„ „ „ 7. 10.	—	—	—
„ „ „ 9. 10.	1:50	—	—
„ „ „ I. 11. 10.	1:2000	1:1000	—
„ „ „ II. 11. 10.	1:100	—	1:50
„ „ „ 20. 11.	1:500	1:500	1:1000
„ „ „ 28. 11.	1:500	1:500	1:1000
„ „ „ 8. 12.	1:50	1:100	1:50
Nichthämol. Stuhlstamm vom 8. 10.	—	—	—
„ „ „ 9. 10.	—	—	—
„ „ „ 20. 11.	—	—	—
„ „ „ 5. 12.	—	—	—
„ „ „ 2. 1.	—	—	—

die sie mit den hämolytischen Stämmen und auch miteinander gemeinsam haben".

Entsprechend diesem Vorgehen stellten wir mit je einem hämolytischen Blut- und Stuhlstamm sowie einem nichthämolytischen Stuhlstamm Immunsera von Kaninchen her und prüften diese Sera in ihrem agglutinatorischen Verhalten gegenüber einer Anzahl innerhalb gewisser Zeitabstände isolierter hämolytischer Urin-, sowie hämolytischer und nichthämolytischer Stuhlstämme des Patienten (s. Tab. I, S. 440).

Wir ersehen aus Tabelle I, daß das mit dem hämolytischen Coli-Stamm aus dem Blut hergestellte Immunserum 50 mit einem Eigentiter 1:2000 sämtliche hämolytische Urincoli und den größten Teil der hämolytischen Stuhlstämme, letztere allerdings etwas weniger hoch, agglutiniert, während die nichthämolytischen Stuhlcoli unbeeinflußt bleiben. Ganz ähnlich verhält sich das mit einem hämolytischen Stuhlstamm gewonnene Immunserum 51 mit einem Eigentiter von 1:5000. Einige der hämolytischen Stuhlcoli, die vom IS. 50 noch schwach agglutiniert wurden, werden allerdings vom IS. 51 nicht ausgeflockt. Immerhin ist die Uebereinstimmung jedoch so weitgehend, daß, wenn auch nicht völlige Identität vorhanden, so doch eine enge Verwandtschaft zwischen den hämolytischen Stämmen aus dem Blut, Urin und Stuhl des Patienten bestehen muß. Diese Feststellung erscheint insofern auch von Wichtigkeit, als sie eine Stütze bietet für die von uns vertretene Anschauung, daß die Erkrankungen des Nierenbeckens, durch Vermittlung des Blut- und Lymphweges, ihren Ursprung vom Darm her nehmen.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten des IS. 52 gegenüber den verschieden hämolytischen und nichthämolytischen Stämmen. Dieses mit einem vom Patienten nicht agglutinierten anhämolytischen Stuhlstamm hergestellte Immunserum (Eigentiter 1:2000) agglutiniert nämlich seinerseits einen beträchtlichen Teil der hämolytischen Urin- und Stuhlcoli, wenn auch der Agglutinationstiter im Vergleich zu den mit den hämolytischen Stämmen hergestellten Immunseren teilweise etwas zurückbleibt. Andere nichthämolytische Stuhlstämme des Patienten werden von ihm ebensowenig beeinflußt wie von den beiden anderen Immunseren.

Es ergibt sich demnach, daß im vorliegenden Falle von Colisepsis die aus dem Stuhl stammenden nichthämolytischen Coli im Gegensatz zu den hämolytischen Stämmen weder vom Krankenserum noch von heterologen Kaninchen-Immunseren agglutiniert werden, daß jedoch ein mit einem solchen nichthämolytischen Stamm hergestelltes Immunserum andere hämolytische Coli aus dem Stuhl und Urin desselben Patienten ausflockt. Es müssen also latent in diesen nichthämolytischen Stuhlstämmen offenbar gleiche Rezeptoren vorhanden sein, wie in den hämolytischen Coli aus dem Stuhl, Urin und Blut dieses Kranken. Eine scharfe Trennung zwischen hämolytischen und nichthämolytischen Stuhlstämmen besteht in diesem Falle ebensowenig, wie — unserer bereits früher vertretenen Ansicht entsprechend — eine Trennung von hämolytischen und nichthämolytischen Urincolistämmen. Vielmehr glauben wir an diesem Beispiel einen Beweis dafür zu sehen, daß auch zwischen hämolytischen

und nichthämolytischen Stuhlstämmen eines Individuums verwandtschaftliche Beziehungen vorhanden sein können.

Einen weiteren Einblick in diese engen serologischen Zusammenhänge zwischen hämolytischen und nichthämolytischen Coli ein und desselben Patienten gewährte uns ferner ein Fall II (Bosse) von Colitis ulcerosa.

Im Stuhlausstrich des Kranken fanden sich auf der Blutplatte massenhaft hämolytische Colibazillen, während nichthämolytische Kolonien nur ganz vereinzelt wuchsen. Dieses überwiegende Auftreten hämolytischer Coli-Stämme im Stuhl beobachteten wir bei mehreren Fällen von schwerer Enterocolitis, während sich bei Gesunden nur in ca. 25 Proz. der Fälle und auch dann immer nur vereinzelte hämolytische Kolonien feststellen ließen. Wir wiesen auf diese Verhältnisse bereits in unseren früheren Arbeiten hin.

Das Serum des Patienten agglutinierte den hämolytischen Stuhlstamm in einer Verdünnung von 1:50, Normalserum ergab keine Agglutination. Der nichthämolytische Stuhlstamm wurde indessen vom Krankenserum nicht ausgeflockt.

Wir stellten uns nunmehr mit dem nichthämolytischen Stuhlstamm ein Immunserum mit einem Eigentiter von 1:500 her und fanden, daß dieses den hämolytischen Stuhlcolistamm ebenfalls bis zur Titergrenze agglutinierte.

Einen weiteren Beweis für die engen verwandtschaftlichen Beziehungen beider Stuhlstämme ergab der Absorptionsversuch. Nach Absorption des Immunserums mit dem hämolytischen Coli-Stamm waren nämlich sämtliche Agglutinine auch gegenüber dem eigenen Stamm gebunden.

Die nahen Beziehungen zwischen hämolytischen und nichthämolytischen Stuhlstämmen eines Patienten waren also auch in diesem Falle erwiesen.

Des weiteren ergab die Prüfung dieses Immunserums gegenüber den untereinander verwandten Coli-Stämmen des Falles I (Clemenz), daß sowohl die hämolytischen Stämme aus dem Blut und Stuhl, sowie auch der nichthämolytische Stuhlstamm des betreffenden Kranken von diesem Serum, wenn auch schwach, agglutiniert wurden (s. Tab. II).

Tabelle II.

Nr.	Hämol. Coli-Stämme		I.-S. Bosse	Nr.	Nichthämol. Coli-Stämme		I.-S. Bosse
	Name	Herkunft	Eigentiter 1:500		Name	Herkunft	Eigentiter 1:500
1	Bosse	Stuhl	1:500	1	Sperling	Duodenum	—
2	Clemenz	Blut	1:100	2	Wittwer	„	—
3	Clemenz	Stuhl	1:100	3	Schulz	„	—
4	Salinger	„	—	4	Leichtmann	„	—
5	Grucziniak	„	—	5	Hesse	Urin	—
6	Schramm	„	1:100	6	Fahlbusch	„	—
7	Kwas	Duodenum	—	7	Clemenz	Stuhl	1:50
8	Krubel	„	—	8	X_1	„	—
9	Delft	„	—	9	X_2	„	—
10	Hirschfeld	Urin	—	10	X_3	„	—

Von 7 hämolytischen Stuhlstämmen anderer Herkunft wurde einer (Schramm) ausgeflockt. Dieser stammte aus dem Stuhl eines anderen Colitiskranken, dessen Serum seinerseits den Eigenstamm nicht agglutinierte. 9 nichthämolytische Coli-Stämme aus dem Verdauungskanal und Urin blieben in Uebereinstimmung mit unserer früheren Erfahrung, die inzwischen auch von Tinozzi (5) bestätigt wurde, von dem Immunserum unbeeinflußt (s. Tab. II).

Zusammenfassung.

Die beschriebenen Fälle sind ein Beispiel dafür, daß zwischen hämolytischen und nichthämolytischen Colistämmen aus dem Stuhl desselben Individuums engere serologische Zusammenhänge nachweisbar sein können. Allerdings ergeben sich diese Zusammenhänge, wie schon in unseren früheren Versuchen gezeigt wurde, nur auf indirektem Wege. Damals fanden wir, daß zwar die mit hämolytischen Coli-Stämmen hergestellten Immunsera andere nichthämolytische Stämme von Urininfektionen nicht agglutinierten, daß aber die mit solchen nichthämolytischen Stämmen gewonnenen Immunsera ihrerseits zahlreiche hämolytische Stämme ausflockten. Dementsprechend kam jetzt die enge Verwandtschaft der nichthämolytischen mit den hämolytischen Stuhlcolistämmen desselben Individuums darin zum Ausdruck, daß die Immunsera der nichthämolytischen Stuhlstämme einen großen Teil hämolytischer Stämme agglutinatorisch beeinflußten.

Anmerkung bei der Korrektur: Aus einer inzwischen erschienenen Veröffentlichung von F. Strunz (Monatsschrift für Kinderheilkunde, Bd. 31) ersehen wir, daß dieser Autor bei einem Falle von Pyurie ebenfalls die serologische Einheitlichkeit der aus Blase, Scheide und Stuhl gezüchteten Coli-Stämme nachweisen konnte.

Literatur.

1) Paltauf, R., in Kolle-Wassermann, Bd. 2, 1. 1913. S. 483. — 2) Meyer, K., u. Löwenberg, W., Klin. Woch. 1924. S. 836. — 3) Löwenberg, W., Ztschr. f. d. ges. exp. Med. Bd. 41. 1924. S. 89. — 4) Bitter, L., u. Gundel, M., Klin. Woch. 1924. S. 2141 und Ztschr. f. Hyg. Bd. 104. 1925. S. 203 u. 752. — 5) Tinozzi, F., Klin. Woch. 1925. S. 1017.

Ueber das Vorkommen atypischer Bakterienstämme bei einer Paratyphus B-Epidemie.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. Korff-Petersen).]

Von Dr. med. et phil. **M. Gundel.**

Mit 1 Kurve im Text.

Die Typentrennung der Vertreter der Paratyphus-Enteritisgruppe, entsprechend den Forderungen der sog. „Kieler Schule", wird bekanntlich noch vielfach nicht anerkannt, und erst in jüngster Zeit nach Fränkel und Much (1) hat wieder Barth (2) auf Grund von Untersuchungen an 19, von Fleischvergiftungen stammenden Stämmen aus seinen Ergebnissen den Schluß gezogen, daß „die Differenzierung des Bacillus paratyphi B in einen echten Paratyphus B-Bazillus und einen Bacillus enteriditis Breslau abgelehnt und an der Auffassung Schottmüllers von der Einheitlichkeit des Paratyphus B-Bazillus festgehalten" werden muß. Auf Einzelheiten der Barthschen Untersuchungsergebnisse soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, betont werden muß aber, daß der ihm von Prof. Bitter zur Verfügung gestellte Breslaustamm „Makrele" nach Barths Angaben Schleimwallbildung gezeigt hat, eine Beobachtung, die wir in Kiel, obwohl wir fast täglich mit diesem Breslaustamm gearbeitet haben, niemals machen konnten.

Auf die Bedeutung der Differenzierung der verschiedenen Typen der Paratyphus-Enteritisgruppe für die Epidemiologie hat die „Kieler Schule", besonders Bitter, genügend oft hingewiesen. Es besteht kein Zweifel darüber, daß die Maßnahmen der Bekämpfung wesentlich von dem bakteriologischen Befund beeinflußt werden, wenn man berücksichtigt, daß bei Breslau- und Gärtner-Infektionen Kontakterkrankungen die Ausnahme, bei Paratyphus B die Regel bilden, daß Breslau- und Gärtner-Infektionen durch den Genuß infizierten Fleisches, Paratyphus B am häufigsten durch den Genuß von durch Bazillenträger infizierter Milch und anderen Nahrungsmitteln verursacht wird, und daß schließlich die Infektionen mit Breslau- bzw. Gärtner-Bakterien vom Tierkörper, die mit Paratyphus B-Bakterien direkt oder indirekt vom menschlichen Körper ausgehen.

Es ist freilich nötig, darauf hinzuweisen, daß gelegentlich bei Paratyphuserkrankungen Bakterien gefunden werden, die zunächst nicht recht in das Schema für Paratyphus B-Bakterien (Neutralrottraubenzuckeragar: Gas: +, Reduktion: +, Chinablaumolke: Bläuung: +, Trübung: +, Umschlag: +, Wälle: +, Indol: —; Rutschen im Gelatinestrich; Fütterungsversuch an der weißen Maus: das Versuchstier bleibt am Leben; serologisches Verhalten) hineinzupassen scheinen, wodurch sie leicht zu Verwirrung Anlaß geben können. Besonders muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß das Wallbildungsvermögen mancher Paratyphus B-Stämme außerordentlich abhängig ist von der Nährbodenbeschaffenheit. Das Phänomen ist bei diesen nur dann gut zu beobachten, wenn Agar in dicker Schicht gewählt wird und bei dann

noch zweifelhaftem Verhalten ist zur Sicherstellung des weiteren das Strich- und Punktverfahren heranzuziehen. Das Rutschen der Paratyphus B-Bakterien auf Gelatine hat meines Erachtens als Unterscheidungsmerkmal gegenüber anderen Vertretern der Gruppe nicht die gleiche Bedeutung wie das Wallbildungsvermögen.

Ich möchte jetzt ausführlicher über meine Beobachtungen bei einer Paratyphus B-Epidemie in Pinneberg (Holstein)[1]) berichten, weil hierbei diese Schwierigkeiten in der Klärung bakteriologisch und serologisch nicht ganz eindeutiger Paratyphus B-Fälle hervortraten.

Es handelt sich bei der fraglichen Epidemie um 23 Fälle, die in der Zeit vom 11. 9. 25 bis 2. 10. 25 erkrankten, und zwar lassen sich 3 Gruppen feststellen. Bei der 1. fielen die Erkrankungen auf den 11. 9., bei der 2. auf den 18. 9. und bei der 3. Gruppe in die Zeit vom 19. 9. bis 1.—2. 10. 25. Auffällig ist es, daß in keinem Fall eine Infektion von mehreren Familienmitgliedern aufgetreten ist. Niemals erkrankten in einem Haus 2 oder mehrere Hausbewohner. Sämtliche von mir besuchten Patienten sind nicht miteinander verwandt oder näher bekannt, sie wohnen sämtlich in verschiedenen Häusern und Straßen, auch ist in keinem Fall Pflegepersonal erkrankt. Bemerken möchte ich des weiteren, daß von den 23 an Paratyphus B erkrankten Personen 16 weiblichen und nur 7 männlichen Geschlechts waren.

Sämtliche Patienten — mit Ausnahme von 2 Fällen, bei denen nähere Angaben nicht zu erlangen waren — hatten in der fraglichen Zeit Wurst aus der gleichen Schlachterei bezogen und waren etwa 10—14 Tage nach dem Genuß erkrankt.

Außerhalb Pinnebergs ist des weiteren eine Krankenschwester aus dem Kreiskrankenhaus Pinneberg erkrankt. Herr Dr. O. Boyksen teilt mir darüber unter dem 13. 10. 25 mit:

„Sie war zur Erholung ins Mutterhaus Oberschlesien gefahren und ist dort krank geworden. Auch hier ist Paratyphus festgestellt. Die Schwester hat keine Typhuskranken gepflegt. Es ist also auch hier die Infektion durch Wurst, die für das Krankenhaus aus derselben Schlachterei bezogen wurde, anzunehmen."

Die bakteriologische Untersuchung der Familienmitglieder und des Personals des Schlachters, von dem die fragliche Wurst stammte, ergab 2 positive Resultate. Bei der 16jährigen Tochter wurden aus Stuhl große, farblose Kolonien gezüchtet, die durch positives Wallbildungsvermögen ausgezeichnet waren. In ihren biochemischen Leistungen verhielten die Bakterien sich in der bunten Reihe (Neutralrottraubenzuckeragar, Peptonwasser, Chinablaumolke) regelrecht und auch die Grubersche Reaktion ließ die Diagnose Paratyphus B zu: Typhus 1:5000 +, Paratyphus 1:20000 +, Breslau 1:1000 +. Mit dem Stamm gefütterte Mäuse blieben am Leben. Bei dem 21jährigen Sohn wurden am gleichen Tage aus Stuhl ebenfalls typische Paratyphus B-Bakterien (im Tierversuch apathogen) gezüchtet, die allerdings vom Typhusserum sehr hoch agglutiniert wurden: Typhus (Endtiter 20000) 1:20000 +, Paratyphus B (Endtiter 20000) 1:20000 +, Breslau (Endtiter 20000) —. Auf meine Anfrage betreffend eine frühere Erkrankung der Kinder des Schlachters, teilte mir der Herr Kreismedizinalrat unter dem 8. 10. 25 das Folgende mit:

---

1) Bei meinen Nachforschungen in Pinneberg habe ich mich vielfach der Unterstützung des Herrn Kreismedizinalrats Dr. Reischauer sowie besonders der Herren Aerzte Drr. G. und O. Boyksen und Flory zu erfreuen gehabt. Auch an dieser Stelle möchte ich den Herren nochmals den herzlichsten Dank für ihre Mühewaltung aussprechen.

„W. und I. sind erwachsene Kinder des Schlachters, von dem aus nach meinen Ermittlungen die hiesige Epidemie ausging. Krank war in der ganzen Familie angeblich niemand, die Tochter war einige Tage nicht wohl, der Arzt führte die Leibschmerzen auf Regelbeschwerden zurück."

Somit dürfen wir annehmen, daß die Epidemie ihre Ursache in dem Genuß infizierten Fleisches hatte. Sicher handelte es sich nicht um eine intravitale Infektion des Fleisches, sondern um eine postmortale Infektion des Wurstbreies. Abgesehen von dem Umstande, daß Paratyphus B-Bakterien (Schottmüller) bis heute noch nicht im Tierkörper nachgewiesen worden sind, spricht gegen eine intravitale Infizierung des Fleisches die Tatsache, daß nur eine relativ kleine Zahl von Personen erkrankt ist und keine Massenerkrankung explosiven Charakters beobachtet wurde, was vermutlich der Fall gewesen wäre, wenn das ganze Tier verseucht gewesen wäre, sowie daß nur Personen, die von der Wurst gegessen hatten, erkrankt sind, mit Ausnahme von 2 Patienten, bei denen die Infektionsquelle nicht ganz sicher festgestellt werden konnte.

Kommen wir nach diesen epidemiologischen Betrachtungen, die eine gewisse Abweichung von der Norm in dieser Pinneberger Paratyphus B-Epidemie dargelegt haben, zu der Besprechung der einzelnen Fälle. Wie ich bereits oben kurz betont habe, erkrankten die Fälle der 1. Gruppe (M. G., H. G., E. M.) sämtlich am 11. 9. 1925.

Der Fall M. G., der in das Krankenhaus Pinneberg am 11. 9 eingeliefert wurde, und von uns als Paratyphus B bakteriologisch und serologisch eindeutig festgestellt werden konnte, war dadurch bemerkenswert, daß er ebenso wie 2 andere Fälle, die kurze Zeit vorher in Pinneberg unabhängig von dieser Epidemie erkrankt waren (Mitte Juli bzw. August, Infektionsquelle wahrscheinlich Blankenese), als Appendizitis eingeliefert wurde. Die beiden letzterwähnten wurden sogar operiert. Da ich auch vom klinischen Verlauf der letzten Blankenesener Epidemie ähnliche Angaben erhielt, durfte an dieser Stelle auf die Möglichkeit dieses differentialdiagnostisch wichtigen Punktes hingewiesen werden.

Frau H. G. ist am 11. 9. in der Rekonvaleszenz im Krankenhaus Pinneberg nach einer gynäkologischen Operation an einem typischen Paratyphus B erkrankt. Aus dem Blutkuchen der 1. eingesandten Blutprobe (Protokoll-Nr. 10182, Widal negativ) wurden auf Malachitgrün- und Chinablauagar große farblose Kolonien gezüchtet, die sich auf den üblichen Differentialnährböden und serologisch wie echte Paratyphus B-Bakterien verhielten, aber nach 24stünd. Bebrütung und folgendem Aufenthalt bei Zimmertemperatur keine Wälle bildeten. Im Strich- und Punktverfahren zeigten dagegen die Bakterien nach 3 Monaten schöne Wallbildung (nach täglicher Ueberimpfung von Schräggagar auf Schrägagar). Im Fütterungsversuch verhielt sich der Stamm wie auch alle weiterhin isolierten Stämme von diesem Fall apathogen. Noch am 28. 9. konnten Bakterien aus dem Blute gezüchtet werden; bei dieser Untersuchung fanden sich nun viele große farblose mit Wall und spärliche ohne Wall (10407), also 17 Tage nach dem Beginn der Erkrankung. Die Agglutination beider Typen ergab: Paratyphus B 1:20000 +, Typhus 1:10000 —, Breslau —. Während die Stuhl- und Urinproben vom 16. 9. negativ ausfielen, konnten am 3. (Stuhl) und 8. 10. (Stuhl und Urin) verdächtige Bakterien aufgefunden werden. Sie verhielten sich serologisch und kulturell wie typische Paratyphus B-Bakterien. Man ersieht aus dieser Untersuchungsreihe, daß der Erreger — frisch aus dem Organismus gezüchtet — sich zunächst atypisch

verhielt, indem er keine Wälle bildete, daß er aber im weiteren Verlauf der Erkrankung (etwa vom 17. Tage ab) immer mehr die Charakteristika des Paratyphus B-Bakteriums annahm. Das klinische Bild, besonders der im Krankenhaus genau verfolgte Verlauf des Fiebers, entsprach durchaus unserer Diagnose Paratyphus B.

Der Fall E. M. war klinisch wie auch bakteriologisch-serologisch ein typischer Paratyphus B. Der Erreger verhielt sich im Fütterungsversuch an der weißen Maus apathogen.

Das Gemeinsame dieser 3 Fälle war also der gleiche Erkrankungstag und die gleiche Infektionsquelle, die in dem Genuß von Wurst aus der gleichen Schlachterei begründet liegt. Bei 2 Fällen verhielt sich der Erreger typisch, beim 3. dagegen nach zunächst atypischem Verhalten erst bei weiterer Züchtung regelrecht.

Etwa 1 Woche später erkrankten gleichzeitig 9 Personen, die von uns bakteriologisch untersucht worden sind. Von diesen Fällen interessieren nur G. B., O. G. und M. H., die übrigen erwiesen sich als durch typische Paratyphus B-Bakterien, die sämtlich im Tierversuch apathogen waren, infiziert.

Die serologische Untersuchung bei G. B. (wbl.), die klinisch an typischem Paratyphus B. erkrankt war, zeigte nach zunächst gleich hoher Agglutination von Typhus- und Paratyphus B-Bakterien (1:200+) späterhin hohe Agglutinationstiter für Paraphus B-Bakterien (1:2000 +) bei geringer Mitagglutination von Typhus (2. Untersuchung 1 : 100 ±, 3. U. —, 4. U. —) und Breslaubakterien (2. U. 1 : 50 ±, 3. U. 1:50 +, 4. U. 1:100 ±. Die Blutkultur (10658) wies nur wenige Kolonien mit, die meisten ohne Wallbildung auf. Getrennt untersucht verhielten sie sich aber beide serologisch ziemlich gleich. Nach 3 Monaten bei täglicher Ueberimpfung trat im Strich- und Punktverfahren und auf dicker Agarschale schöne Wallbildung auf. Die Fütterungsversuche ließen die Tiere am Leben. Die 1. Stuhlprobe (3. 10.) zeigte ein gleiches Bild. Die 2. nach 5 Tagen ließ nur große farblose Kolonien mit Wallbildung erkennen (ebenso aus Urin), also etwa am 27. Tage nach Beginn der Erkrankung schon in der Rekonvaleszenz bzw. am 12. Tage nach dem ersten positiven Befund.

Am interessantesten ist der Fall Otto G., der an Typhus verdächtigen Symptomen erkrankte, und dessen Krankheitsverlauf erheblich länger war, als der aller übrigen Patienten. Die Temperatur- und Pulskurven (siehe nebenstehende Kurve) sprechen für Paratyphus. Vom Krankheitsbild selbst ist vielleicht nur das besonders auffallende Freisein des Sensoriums und die vom Beginn ab 4 Wochen lang dauernde Verstopfung

Kurve 1.

zu erwähnen. Der Widal vom 25. 9. (der Widal vom 21. 9. war negativ) sprach eigentlich mehr für Typhus: Typhusstamm I 1:200 ±, Typhusstamm II 1:200 ±, Paratyphus B 1:100 +, Breslau 1:50 +. Jedoch wurden aus der Blutkultur große farblose Kolonien gezüchtet, denen bei Zimmertemperatur das Wallbildungsphänomen fehlte Gas +, Indol —). Der Stamm verhielt sich bei der serologischen Prüfung, wie folgt: Typhus 1:20000 ±, Breslau 1:20000 ±, Paratyphus B 1:10000 ±. Nach diesem Befund (10389) konnte keine eindeutige bakteriologische Diagnose gestellt werden. Die weitere Untersuchung ergab, daß das eigene Serum den eigenen Stamm 1:1000 agglutinierte sowie die folgenden Agglutinationswerte aufwies:

Gärtnerserum	1:2000	+
Erzindjanserum	1:2000	+
Suipestiferserum	1:2000	+
Glässerserum	1:5000	+
Paraty. C-Serum	1:500	—
Paraty. A-Serum	1:500	—
Bernhard-Serum	1:500	—
Negatives Serum	1:500	—

Auf Grund dieses agglutinatorischen Verhaltens war man gezwungen, als Diagnose „Angehörige der Typhus-Paratyphus B-Enteritisgruppe“ herauszugeben. Der Tierversuch an der weißen Maus, vielfach wiederholt, verlief nach 8 Tagen positiv! Die aus Herzblut und allen Organen gezüchteten Bakterien verhielten sich kulturell und biochemisch (Wallbildungsvermögen —, Gasbildung +, Indolbildung —) und serologisch wie der Ausgangsstamm. Nach 3 Monate langer täglicher Ueberimpfung war das kulturelle (fehlende Wallbildung) und das serologische Verhalten ziemlich unverändert geblieben: Paratyphus B 1:10000 +, Breslau 1:20000 +, Typhus 1:5000 +, Suipestifer 1:2000 +. Bei der von Bitter, Weigmann und Habs (5) angegebenen Rhamnosereaktion verhielten sich die Bakterien wie ein Bact. ent. Breslau. Da alle weiteren Untersuchungen bei diesem Patienten negativ ausfielen, mußten wir uns auf dieses Resultat beschränken. — In der Rekonvaleszenz erkrankte nun der Patient nach 56tägiger Krankheitsdauer mit stärker zunehmendem Krankheitsgefühl und bald hohem Fieber (40,6°), so daß der behandelnde Arst sich veranlaßt sah, noch einmal Blut zur Klärung des Krankheitsbildes zu senden. Er schrieb gleichzeitig, daß er glaube, es handle sich um ein Paratyphus B-Rezidiv. Der Widal zeigte dieses Ergebnis: Typhus —, Paratyphus B 1:2000 +, Breslau 1:500 ±, und aus der Blutkultur wuchsen typische große farblose Kolonien (12912) mit sehr schönem Wallbildungsvermögen bei negativer Tierpathogenität. Sie verhielten sich auch agglutinatorisch durchaus typisch: Typhus: 1:1000 +, Paratyphus B 1:20000 +, Breslau 1:500 +.

Ein endgültiges Urteil über diesen bisher einzig dastehenden Fall möchten wir freilich noch nicht abgeben. Untersuchungen über die Frage der Variabilität in der Paratyphusgruppe sind eingeleitet und wir werden später auch auf diesen Fall zurückkommen.

Ein zweiter besonders interessanter Fall ist M. H. (wbl.), die gleichfalls am 18. 9. unter langsam an Stärke zunehmenden Erscheinungen (Schlappheit, Kopfschmerzen, bald stark belegte Zunge, Fötor, Verstopfung!) erkrankte. Die am 10. Krankheitstag angestellte Widal-Reaktion fiel negativ aus, jedoch wuchsen aus der Blutaussaat große farblose Kolonien (10973), die nach Aufenthalt bei Zimmertemperatur

eine atypische Wallbildung, wie sie ähnlich von Bitter und Holtz (4) für Bact. abortus equi beschrieben worden ist, zeigten. Sie bildeten Gas aus Traubenzuckeragar bei negativem Indolbildungsvermögen. Ihre weitere Prüfung ergab (Gruber): Typhus 1:5000 +, Paratyphus B 1:5000 +, Breslau 1:10000 ±. Da sie sich im Tierversuch apathogen verhielten, konnte man sie wieder nur als Angehörige der Typhus-Paratyphus-Enteritisgruppe bezeichnen, ohne sie einem besonderen Typ angliedern zu können. Nach 3 Monate langer täglicher Ueberimpfung zeigten sie kulturell und serologisch die Charakteristika eines Paratyphus B-Bakteriums: Typhus 1:10000 +, Paratyphus B 1:20000 +, Breslau 1:2000 +, Gärtner 1:2000 +. Am 13. Krankheitstag konnten wir eine Stuhl- und Urinprobe der Patientin untersuchen. Während aus dem Urin keine Vertreter dieser Gruppe gezüchtet werden konnten, wuchsen aus den Stuhlaussaaten (11129) große farblose Kolonien ohne Wall (Gas +, Indol —). Serologisch verhielten sie sich schon mehr wie ein Paratyphus B-Bakterium: Paratyphus B 1:20000 +, Typhus 1:10000 +, Breslau 1:10000 ± (nach 3 Monaten: Paratyphus B 1:20000 +, Typhus 1:2000 +, Breslau 1:10000 ±, Gärtner 1:500 ±, Glässer 1:2000 +). Sie waren gleichfalls im Fütterungsversuch apathogen. Auch bei dieser Untersuchung konnte man sicher nur sagen, daß es sich um einen Vertreter der Paratyphus-Enterititisgruppe handelte. Aehnlich wie der Fall H. G., der eingangs besprochen wurde, ergaben nun die Untersuchungen im weiteren Verlauf der Erkrankung und der Rekonvaleszenz nur typische Paratyphus B-Bakterien, die durch positives Wallbildungsvermögen, eindeutiges serologisches Verhalten und negative Tierpathogenität ausgezeichnet waren, so daß jetzt — etwa vom 17. Krankheitstag ab — in allen Fällen die Diagnose Paratyphus B gestellt werden konnte. Also auch in diesem Fall sehen wir bei Beginn der Erkrankung ein durchaus atypisches Verhalten der Bakterien, die sich aber bei späterer Züchtung aus dem erkrankten und wieder genesenen Organismus als typische Paratyphus B-Bakterien zu erkennen gaben.

Gehen wir jetzt zu der Besprechung der dritten Gruppe von Erkrankungen über, so muß festgestellt werden, daß für diese Fälle die Infektionsquelle nur zum Teil klargelegt werden konnte.

Der Fall F., Mitglied einer Arbeiterkolonne, erkrankte etwa am 24. 9. unter paratyphusverdächtigen Symptomen. Nach den Feststellungen des Kreisarztes ist hier anrüchiges Fleisch verarbeitet worden. Weitere Fälle sind dort nicht vorgekommen. Die bakteriologischen und serologischen Untersuchungen ergaben das Folgende:

4. **Krankheitstag**: 10737: Widal: Typhus —, Paratyphus B 1:200 ±, Breslau 1:200 +
10738: Blutkultur große farblose ohne Wall (Gas +, Indol —)
Gruber: Typhus, Paratyphus B, Breslau } 1:10000 +
Nach 3 Monaten verhielt sich der Stamm:
Typhus 1:2000 +
Paratyphus B 1:20000 +
Breslau 1:1000 ±

8. Krankheitstag: 11030: Stuhl: große farblose, einzelne Kolonien mit Wall, beide Stämme getrennt geprüft verhalten sich gleich: Gas +, Indol —
Gruber: Typhus 1: 5000 +
Paratyphus B 1:20000 +
Breslau 1: 2000 +
Fütterungsversuch — !

11. Krankheitstag:	**11117:**	**Blut:**	**Widal:**	
			Typhus	—
			Paratyphus B	1: 2000 +
			Breslau	1: 1000 ±
14. Krankheitstag:	**11294:**	**Stuhl:**	**große farblose mit Wall** (Gas +, Indol —)	
		Gruber:	**Typhus**	—
			Paratyphus B	1:20000 +
			Breslau	1: 2000 +
18. Krankheitstag:	**11459:**	**Blut:**		
		Widal:	**Typhus**	1: 50 +
			Paratyphus B	1: 2000 +
			Breslau	1: 200 +
23. Krankheitstag:	**11678:**	**Blut:**		
		Widal:	**Typhus**	—
			Paratyphus B	1: 1000 +
			Breslau	1: 200 +

Alle anderen und weiteren Untersuchungen verliefen negativ. Man ersieht aus dieser Uebersicht, daß der Fall F. große Aehnlichkeit in seinen bakteriologischen Untersuchungsbefunden mit den oben besprochenen Fällen H. G., G. B., O. G. und H. M. aufweist. Auch hier sah man zunächst Bakterien, die keinem der bekannten Typen unterzuordnen waren, bis schließlich nach 14tägiger Erkrankung einwandfreie Paratyphus B-Bakterien gezüchtet werden konnten.

Für den Fall Schw. (wbl.) kann ebenfalls die Infektionsquelle nicht sicher angegeben werden. Der behandelnde Arzt hält eine Infektion in Hamburg für möglich. Wenn auch aus Stuhl nur einwandfreie Paratyphus B-Bakterien gezüchtet werden konnten, so halte ich doch auf Grund der serologischen Blutuntersuchung (wie ebenfalls bei dem Fall F) einen Zusammenhang mit den anderen Pinneberger Fällen nicht für ausgeschlossen:

2. Krankheitstag:	**Widal:** —		
5. Krankheitstag:	**Widal:**	**Typhus I**	1: 100 +
		Typhus II	1: 200 +
		Paratyphus B	1: 200 +
		Breslau	1: 200 +
15. Krankheitstag:	**Widal:**	**Typhus I u. II**	1: 100 ±
		Paratyphus B	1:1000 +
		Breslau	1:1000 +
20. Krankheitstag:	**Widal:**	**Typhus I u. II**	—
		Paratyphus B	1:2000 +
		Breslau	1: 200 +

Auch bei diesem Fall ist wieder die hohe Mitagglutination von Breslaubakterien und Typhusbakterien (im Beginn) besonders auffällig.

Während bei 5 weiteren an Paratyphus B verdächtigen Symptomen erkrankten Patienten unsere Untersuchungen ein negatives Ergebnis zeitigten, konnten bei den Patienten Dr. P. aus Blut und Stuhl Paratyphus B-Bakterien gezüchtet werden. Besonders besprochen werden müssen noch die Fälle H. und Sch.

Frau H. erkrankte um den 1. 10. mit einem Paratyphus B verdächtigen Krankheitsbild. Die Widalsche Reaktion ergab am 3. 10.: Typhus —, Paratyphus B 1:200 ±, Breslau 1:200 ±. Die Aussaaten aus der Anreicherung des Blutkuchens blieben steril. Jedoch konnten wir 2 Tage später aus dem Stuhl große, farblose Kolonien (11169) züchten, die nach Aufenthalt bei Zimmertemperatur Wallbildung vermissen ließen. In der bunten Reihe zeigten sie Gasbildung bei fehlender Indolbildung. Die Agglutination ergab: Typhus 1:5000 +, Paratyphus B 1:20000 +, Breslau 1:20000 +. Da der Tierversuch keine Tierpathogenität zeigte, konnten die gezüchteten Bakterien nur als Angehörige der Typhus-

Paratyphus-Enteritisgruppe angesprochen werden. Alle weiteren Untersuchungen von Blut, Stuhl und Urin fielen negativ aus, und so mußte die endgültige Klärung dieses Falles späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Eine tägliche Ueberimpfung von Schrägagar auf Schrägagar hatte den gewünschten Erfolg. Die nach 3 Monaten erfolgte neuerliche Prüfung zeigte geringes Wallbildungsvermögen (mikroskopisch) und dieses serologische Verhalten: Typhus 1:2000 +, Paratyphus B 1:20000 +, Breslau 1:1000 ±. Danach können wir wohl jetzt sagen, daß es sich auch hier um eine Infektion mit Paratyphus B-Bakterien gehandelt hat.

Ein ähnliches Ergebnis zeitigten die Untersuchungen bei dem etwa in gleicher Zeit an Paratyphus B-verdächtigen Symptomen erkrankten H. Sch. Bei der Widalschen Reaktion verhielt sich das Patientenserum, wie folgt: Typhus 1:50 +, Typhus II 1:30 +, Paratyphus B 1:100 +, Breslau 1:200 ±. Die Blutkultur ergab große farblose Kolonien (11068) ohne Wallbildungsvermögen (Gas +, Indol —), die von Typhusserum bis 1:10000 +, Paratyphus B-Serum 1:20000 + und Breslauserum 1:10000 + agglutiniert wurden. Auch in diesem Falle konnte keine einwandfreie Diagnose herausgegeben werden. Bei dauernd negativer Tierpathogenität verhielten sich die Bakterien bei inzwischen aufgetretener Wallbildung auch serologisch nach 3 Monaten noch ziemlich gleich: Typhus 1:2000 +, Paratyphus B 1:10000 ± und Breslau 1:10000 ±. In der Rhamnosereaktion (5) verhielt sich dieser Stamm, ebenso wie der zuerst gezüchtete Stamm O. G. (s. o.), wie ein Breslaubakterium, während sich alle anderen untersuchten während dieser Epidemie isolierten Stämme nach dieser Reaktion wie typische Paratyphus B-Bakterien verhalten. Ich möchte hier aber besonders hervorheben, daß alle Stämme erst nach 3—5 Monate langer täglicher Ueberimpfung geprüft wurden.

Fassen wir die Ergebnisse unserer bakteriologisch-serologischen Untersuchungen zusammen, so haben wir in einem Teil der Fälle dieser epidemiologisch (Fehlen von Kontaktinfektionen) von der Norm abweichenden Paratyphusepidemie durchaus typische Paratyphus B-Bakterien gezüchtet. In einem weiteren Teil der Fälle wurden zu Beginn der Erkrankung kulturell und serologisch vom Normaltyp abweichende Bakterien gezüchtet, die — da die Annahme einer Mischinfektion abgelehnt werden muß — nach kürzerer oder längerer Erkrankungsdauer in den Normaltyp eines Paratyphus B-Bakteriums übergingen. Der allergrößte Teil der anfänglich atypischen Stämme konnte aber auch durch Fortzüchtung auf Agar „typisiert" werden (Neißer). In 2 Fällen konnten je einmal atypische Bakterien gezüchtet werden, wobei wir die Frage offen lassen müssen, ob nicht doch noch im Menschenkörper eine Aenderung im kulturellen und serologischen Verhalten eingetreten ist, die wir nur nicht wegen der weiteren negativen Untersuchungsbefunde erkennen konnten. Diese beiden Stämme konnten aber durch Fortzüchtung wenigstens kulturell „typisiert" werden. In einem Fall blieb der im Beginn der Erkrankung isolierte Mikroorganismus auch späterhin atypisch. Hervorgehoben werden muß, daß die von mir geschilderten Schwierigkeiten sicher nicht häufig auftreten. In dem großen Material unseres Instituts sind sie bei den erwähnten Gruppenerkrankungen zum erstenmal beobachtet.

Nachdem wir im Vorstehenden die Schwierigkeiten in der Klärung epidemiologisch und bakteriologisch nicht eindeutiger Paratyphus B-

Fälle betont haben, sei zum Schluß noch auf eine Frage eingegangen, die auch von größter praktischer Bedeutung ist. In der Nähe von Pinneberg (Sülldorf) war die Tochter des Landwirts T. als einziger Fall im Dorf mit Paratyphuserscheinungen (bakteriologisch und serologisch nicht festgetellt) erkrankt, und die Infektion wurde auf eine im Betriebe befindliche erkrankte Kuh zurückgeführt. Die bakteriologische Untersuchung der notgeschlachteten Kuh an anderer Stelle ergab „Paratyphus-Gärtner-Bazillen", die aus technischen Gründen nicht näher differenziert werden konnten. Auf meine Bitte um Ueberlasung des Stammes erhielten wir Fehlanzeige. Dieser Fall und eine Reihe anderer Paratyphus B-Fälle in Rissen — einem Dorf in der Nähe von Uetersen (Holstein) — sowie am anderen Elbufer gaben Veranlassung, von „größeren Epidemien, ausgehend von kranken Rinderbeständen", zu sprechen und Unruhe in die Bevölkerung zu bringen. Es wurde von Aerzten im allgemeinen die „Tatsache" betont, daß darmkrankes Rindvieh bzw. der Genuß von Fleisch krank gewesener Rinder Paratyphus beim Menschen hervorrufen kann. Wir wissen, daß intravitale Infektionen des Fleisches nur durch Bact. ent. Breslau und Bact. ent. Gärtner verursacht werden können, und daß bis heute Paratyphus B-Bakterien in dem Körper kranker Rinder nicht nachgewiesen sind. Den Grund für diese Verwirrung müssen wir in der mangelhaften Nomenklatur erblicken. Kommen, wie es ja der Fall ist, bei Mensch und Tier die gleichen Krankheitserreger bei verschiedenen Krankheitsbildern vor, so sollte man doch schließlich die menschliche Erkrankung zur Benennung des Erregers heranziehen (s. Bitter, 3 u. 4). Mit Herrn Dr. Lütje (Leiter des Instituts zur Bekämpfung von Fohlenkrankheiten, Stade), sind wir uns darin einig, daß es endlich an der Zeit ist, das Paratyphusproblem von ärztlicher und tierärztlicher Seite gemeinsam aufzurollen und auch nomenklatorisch eine Einigung zu erzielen. Mißverständnisse, wie sie bei den letzten Paratyphus B-Epidemien in der Pinneberger Gegend vorgekommen sind, zeigen zu deutlich, daß es nicht so weiter gehen kann. Die Epidemien unter den Rinderbeständen sind nach schriftlichen Mitteilungen des Herrn Dr. Lütje zurückzuführen auf die Infektion mit dem „Gärtner-Bazillus, welcher ja eigentlich das Paratyphusbakterium des Rindviehs ist, und von uns deswegen, soweit es das Tierreich anbetrifft, als das Bact. paratyphi bovis bezeichnet wird." Wir haben selbst 2 dieser aus dem Rind isolierten Stämme nachgeprüft und konnten die Diagnose „Gärtner-Bakterien" bestätigen. In der fraglichen Zeit ist von uns in Schleswig-Holstein kein Fall einer Infektion mit Bact. ent. Gärtner beobachtet worden!

Literatur.

1) Fränkel u. Much, Dtsch. med. Wochenschr. 1924. Nr. 30 und 1925; Nr. 6. — 2) Barth, Arch. für Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 29. 1925. Beih. 1. — 3) L. Bitter, Dtsch. tierärztl. Wochschr. 1923. Nr. 22. — 4) L. Bitter und H. Holtz, Arch. für wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 50. 1923. — 5) L. Bitter, F. Weigmann u. H. Habs, Münchener med. Wochenschr. (Im Druck.)

Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen ist bereits von Gildemeister auf der letzten Mikrobiologentagung der Plan mitgeteilt worden, daß vom Reichsgesundheitsamt die Typhus-Paratyphusfrage in Zusammenarbeit mit anderen Instituten einer eingehenden Prüfung unterzogen werden soll und damit hoffentlich einer baldigen Klärung entgegengeführt wird.

Beitrag zur Frage der Abtrennung des Bacillus enteritidis Breslau gegen Paratyphus B-Bazillen.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie, Gelsenkirchen (Direktor: Prof. Dr. Hayo Bruns).]

Von Dr. **Paul Kolf,** Assistenzarzt.

Den Nachweis der ursächlichen Bedeutung bestimmter Bakterien für die Fleischvergiftung erbrachte zuerst A. Gärtner 1888 durch Isolierung des nach ihm benannten Bac. enteritidis aus der Milz einer notgeschlachteten Kuh und der Milz einer an Fleischvergiftung gestorbenen Person. Später sind in einer Reihe von ähnlichen Erkrankungen Bazillen gefunden worden, die mit dem Gärtner-Bazillus identisch oder ihm nahe verwandt waren. 1899 und 1900 züchtete Schottmüller bei Typhus ähnlichen Erkrankungen in Hamburg aus dem Blute einen Bazillus, den er Bac. paratyphi B nannte, und der auch mit dem Gärtner-Bazillus gewisse Aehnlichkeit aufwies. Der Frage der Beziehung zwischen den Erregern der Fleischvergiftung und dem paratyphi B wurde zuerst von Trautmann näher getreten. Die von ihm mit hochwertigen, agglutinierenden Seren angestellten Untersuchungen, sowie die späteren Untersuchungen von Uhlenhuth u. a. zeigten, daß bei epidemischen Fleischvergiftungen, die unter dem Bilde der akuten Gastroenteritis verlaufen, mindestens 2 Typen von Bazillen vorkommen, nämlich der Gärtner-Bazillus und der im Flüggeschen Institut von Kaensche zuerst isolierte Bac. Breslaviensis. Seitdem im Jahre 1896 Kaensche den Bac. Breslaviensis von der Paratyphusgruppe abgetrennt hat, ist der Streit über die Berechtigung dieser Abtrennung nicht zur Ruhe gekommen. Schon 2 Jahre früher hat Fischer darauf aufmerksam gemacht, daß verschiedene Paratyphusarten zu unterscheiden seien. Seitdem ist nun eine Reihe von kulturellen und serologischen Verschiedenheiten entdeckt worden, durch die es nach Ansicht der Autoren möglich ist, den Bac. ent. Breslau zu isolieren. Reiner Müller zeigte, daß die Schleimwallbildung, die von v. Drigalski und Konradi beschrieben worden ist, nur bei echten Paraty. B-Bazillen vorkommt, bei Breslaviensis-Stämmen aber fehlt. Fast alle Untersuchungen, die später in dieser Hinsicht unternommen wurden, ergaben die Richtigkeit dieses Phänomens. Als weiteres Merkmal der echten Paratyphus B-Stämme fand B. Fischer auf Gelatine ein üppiges, schleimiges Wachstum, welches er bei dem Bac. Breslaviensis vermißte. Durch umfassende Versuche konnte Bitter noch weitere Unterscheidungsmerkmale nachweisen: Fehlen des rahmigen Wachstums auf Gelatine und die Pathogenität für Mäuse beim Fütterungsversuch. Er bestätigt auch das von Reiner Müller zuerst beschriebene Fehlen der Knopfbildung auf Raffinoseagar. Bitter war auch der erste, der auf den Unterschied im klinischen Verlauf der Krankheiten hinwies. Er fand zusammen mit Holz, daß Gärtner- und Breslaubazillen keine typhösen, sondern nur gastrointestinale Erscheinungen machen. Einige Schwierigkeiten machte zunächst die serologische Ab-

grenzung des Bac. Bresl. durch die Agglutination, denn sowohl der Paratyphus B-Bazillus als auch der Bac. Bresl. wird durch Paratyphus- und durch Breslauserum agglutiniert, allerdings in ganz verschiedenen Graden. Auf Grund dieses Unterschiedes im Grade der Agglutination und auf Grund der klinischen und kulturellen Verschiedenheiten tritt dann auch Gärtner für eine vollständige Trennung ein. Es gelang auch, die erwähnten Schwierigkeiten bei der Agglutination zu beseitigen durch das Castellanische Absättigungsverfahren, dessen sich eine Reihe von Autoren bedienten (Olitzki, Schiff, Bock, Bonhoff, Spät und andere). Ausführliche Unterschiede im Rezeptorenapparat konnte Schiff nachweisen. Er fand, daß die Bazillen der Breslaugruppe spezifische thermolabile Rezeptoren besitzen; dagegen glaubte er, daß Paratyphus B und Breslav. sich in ihren thermostabilen Rezeptoren nicht unterscheiden. Trotz dieser reichen Unterscheidungsmerkmale fehlte es nicht an solchen Forschern, die einer Abtrennung des Bac. Breslav. ablehnend gegenüberstanden. So fielen die Versuche, die Manteufel und Beger ausführten, unbefriedigend aus. Sie sind daher der Ansicht, daß ein gültiger Beweis noch nicht erbracht sei und halten eine weitere Bearbeitung dieser Frage für notwendig. Allerdings können auch sie nicht ableugnen, daß gewisse serologische Differenzierungsmöglichkeiten bestehen. Auch in den Reihen der Kliniker stieß die Abtrennung zunächst auf Schwierigkeiten, so teilten Kurt Henius und Holm und Levy Krankheitsfälle mit, wo Paratyphus B-Bazillen und Breslaubazillen ähnliche Krankheitsbilder verursachen. Vielleicht lag das an den zunächst unvollkommenen Identifizierungsmöglichkeiten der Breslaubazillen, denn bald betonte Schittenhelm auf Grund einer Makrelenvergiftungsepidemie in Kiel, die auf den Bac. Breslav. zurückzuführen war, die Wichtigkeit der Trennung des Paratyphus B und Bac. Breslav.

Der Mehrzahl der ausgeführten Versuche haftet der Fehler an, daß sie mit alten, zum Teil mehrere Jahre lang fortgezüchteten Stämmen ausgeführt sind, ein Mangel, auf den die Autoren selbst aufmerksam machen (Bitter, Manteufel, Beger und andere).

Auf Veranlassung meines Chefs, Herrn Professor Dr. H. Bruns, habe ich es unternommen, aus dem überaus reichen Material des Gelsenkirchener Instituts für Hygiene und Bakteriologie die vorkommenden Breslaustämme zu isolieren und auf ihre biologischen Eigenschaften zu prüfen. Der Wert dieser Untersuchungen steigt dadurch, daß, im Gegensatz zu der Mehrzahl der früheren Untersuchungen, ganz frisch aus dem eingekommenen Material gezüchtete Stämme verwandt wurden. Stuhl und Urin wurden auf je eine Endo-, Drigalski- und Malachitgrünagarplatte ausgestrichen. Die irgendwie verdächtigen Kolonien wurden dann mit Typhus — Paratyphus — und einem Serum, das nur noch Bac. Breslav. agglutinierte, auf dem Objektträger agglutiniert. Dies letztere Serum wurde durch den Castellanischen Absättigungsversuch in der Weise gewonnen, daß Breslauserum, das noch relativ stark den Paratyphus B-Bazillus mitagglutinierte, mit reichlich Kultur von 5 verschiedenen Paratyphus B-Stämmen versetzt wurde und, nachdem es 2 Std. bei 37° im Brutschrank gestanden, scharf auszentrifugiert wurde. Das so gewonnene Serum agglutinierte dann nur noch den Bac. Breslav.

Auf oben genannte Art und Weise gelang es dann, unter 5917 Untersuchungen (Juni/Juli 1925), von denen 178 Typhus- und 272

Paratyphus B- positiv waren, 6 Breslaustämme zu isolieren, die dann weiter untersucht werden konnten. In allen 6 Fällen handelte es sich um Personen, die nach Fleischgenuß erkrankt waren. Es waren ausnahmslos, wie sich durch unsere späteren Erkundigungen herausstellte, alle Personen miterkrankt, die von dem betreffenden Fleisch mitgegessen hatten; allerdings gelang es nicht immer, bei allen Erkrankten den Erreger nachzuweisen.

Im Gegensatz zur echten Paraty.-Infektion, bei der die Inkubation doch gewöhnlich mehrere Tage bis Wochen dauert, bevor sich die schweren Krankheitssymptome zu äußern pflegen, wurden in unseren Fällen die Intoxikationserscheinungen ohne Ausnahme bereits wenige Stunden nach dem Genuß des betreffenden Fleisches manifest. Stets waren es die für Infektion mit Bac. Breslav. typischen klinischen Symptome: Fieber, starke Kopf- und Leibschmerzen, häufige Durchfälle und öfteres Erbrechen. Nach einigen Tagen gingen die schlagartig aufgetretenen Erscheinungen schnell zurück und die Kranken erholten sich relativ gut. Nachdem wir die betreffenden Stämme durch Agglutination mit unserem, nach Castellani mit Paraty. B-Bazillen abgesättigtem Breslauserum herausgefunden, gingen wir daran, dieselben auf ihr kulturelles und serologisches Verhalten, sowie durch den Mäusefütterungsversuch näher zu untersuchen. Unsere Untersuchung erstreckte sich nun analog den von anderen Autoren angegebenen Methoden auf folgende Unterscheidungsmerkmale:

1) **Wallbildung,**
2) **Gelatinestich,**
3) **Mäusepathogenität,**
4) **Agglutination (in Proz.) zum Titer,**
5) **Castellanischer Versuch,**
6) **Knopfbildung auf Raffinoseagar.**

Ad 1. Die fraglichen Breslaustämme wurden in stark verdünnter Aufschwemmung auf Endo-Platten und Agarplatten ausgestrichen. Ebenso wurden Kulturen aus sicheren Paraty. B-Stämmen zum Vergleich angelegt. Es zeigte sich bei den Paraty. B-Kolonien regelmäßig eine deutliche Wallbildung, die bei allen Breslaukolonien fehlte. Weiterhin wurden Mischkulturen aus beiden Bakterienarten ausgesät, aus denen nachher mit großer Sicherheit die Breslaukolonien durch das Fehlen der Wallbildung erkannt und leicht isoliert werden konnten.

Ad 2. Weniger deutliche Unterschiede sahen wir in der Gelatinekultur. Wenn die Paraty. B-Stämme in der Regel auch üppiger und rahmartig wuchsen, so ähnelten ihnen einzelne Breslaustämme derart, daß wir eine Unterscheidung, dem Wachstum nach, zu machen, nicht immer imstande waren.

Ad 3. Weiße Mäuse wurden mit Brotstückchen, die in Reinkultur von Breslaubazillen-Aufschwemmung eingeweicht waren, gefüttert. Sie starben ausnahmlos am 6.—8. Tage, 1 erst am 10. Tage nach der Fütterung. Aus ihrem Herzblut, Milz, Leber und Nieren wurde regelmäßig der verfütterte Erreger in großer Menge und in Reinkultur gezüchtet. Alle mit Paraty. B-Bazillen gefütterten Kontrolltiere blieben am Leben.

Ad 4. Die meisten der von uns aufgefundenen Paraty B-Stämme, zu denen auch unsere Laboratoriumsstämme gehören, wurden auch von unserem ursprünglichen Breslauserum in verschiedenen Graden, meist bis zu 50 Proz. der Höhe des Titers, agglutiniert.

Ad 5. Das nach dem Castellanischen Absättigungsverfahren modifizierte Breslauserum agglutinierte die Breslaustämme in voller

Höhe des Titers, dagegen keinen unserer Paraty. B-Stämme.

Ad 6. Auf Raffinoseagarplatten wurden Paraty B-Bazillen und Breslaubazillen ausgesät. Während wir bei den Paraty B-Kolonien deutliche Knopfbildung sahen, fehlte diese bei den Breslaukolonien so daß es auch hier wieder möglich war, in Mischkulturen makroskopisch den Breslaustamm zu erkennen und zu identifizieren.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

1) An Hand von frischen Stämmen gemachte Erfahrungen ergeben, daß eine Reihe biologischer und serologischer Unterschiede zwischen dem Bac. Breslaviensis und den Paraty. B-Bazillen besteht und daß es daher seine Berechtigung hat, den Bac. Bresl. und den Paraty. B, 2 wohl wesensverwandte, aber im Grunde doch ganz verschiedene Erreger, abzutrennen. — 2) Wenn sich auch nicht immer klinisch scharfe Grenzen ziehen lassen zwischen einer Paraty. B- und Baz.-Breslau-Infektion, so ist es doch nach unseren Erfahrungen möglich, auf Grund der biologischen und serologischen Unterschiede, sowie mit Hilfe des nach dem Castellanischen Absättigungsverfahren modifizierten Breslauserums den Bac. Bresl. schnell zu identifizieren.

Literatur.

1) Bitter, Ztschr. f. Hyg. Bd. 100. — 2) Ders., Makrelen-Vergiftung in Kiel. (Med. Ges. zu Kiel, Sitz. vom 24. 6. 1919.) — 3) Bitter u. Holz, Die Bedeutung der Typentrennung in der Paraty.-Enteritisgruppe. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 50. S. 119.) — 4) Bitter, Med. Ges. zu Kiel. 5. Febr. 1920. — 5) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. H. 2. — 6) Fischer, Ztschr. f. Hyg. Bd. 39. — 7) Gärtner Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. S. 487. — 8) Jochmann-Hegler, Lehrb. d. Infektionskh. 1924. — 9) Henius, Kurt, Centralbl. f. ges. Hyg. Bd. 2. S. 424. — 10) Holm u. Lewy, Ibid. Bd. 3. S. 151. — 11) Kaensche, Ztschr. f. Hyg. Bd. 22. 1896. — 12) Kolle-Hetsch, Exp. Bakt. u. Infektionskh. Bd. 1. 18. Vorl. — 13) Manteufel u. Beger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. S. 161. — 14) Müller, Reiner, Münch. med. Wochenschr. 1914. S. 471. — 15) Ders., Dtsch. med. Wochenschr. 1910. S. 3287. — 16) Olitzki, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. H. 6. — 17) Schittenhelm, Münch. med. Wochenschr. 1920. S. 1309. — 18) Schiff, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. S. 511. — 19) Ders., Ibid. Bd. 35. S. 292. — 20) Uhlenhuth u. Hübener, Handb. d. path. Mikr. Bd. 3. 1913.

Versuche über die Beeinflussung der experimentellen Tuberkuloseerkrankung mittels „stummer Infektion".

I. Mitteilung.

[Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.]

Von **Hans Reiter.**

In einer Publikation über „stumme Infektion" bei experimenteller Weilscher Krankheit und Naganaerkrankung war ausgesprochen worden, daß das Entstehen einer „stummen Infektion"

offenbar an die Möglichkeit der Erzeugung einer echten Immunität gebunden ist. Welche Bedeutung hierbei der sogenannten „Infektionsimmunität" zukommt, war offen gelassen worden. Ob Beziehungen zwischen diesen beiden Immunitätszuständen, die heute als wesensverschieden beurteilt werden, bestehen, ob diese Beziehungen vielleicht viel enger sind, als heute durch eine unvollkommene Betrachtungsweise angenommen wird, ja ob vielleicht der „Infektionsimmunität" im Ablauf physiologischen und pathologischen Geschehens eine weit umfassendere Rolle zuzuteilen ist, — diese Fragen zu erörtern soll einer anderen Veröffentlichung vorbehalten bleiben.

Es mußte eine reizvolle Aufgabe sein, die an anderen Infektionsarten über die Nachwirkungen einer „stummen Infektion" gemachten Beobachtungen[1]) auch für die experimentelle Tuberkulose einer Prüfung zu unterziehen.

Wenn hier eine Veröffentlichung dieser zurzeit noch keine Folgerungen gestattenden Versuchsergebnisse vorgenommen wird, so geschieht es, um den dieser Arbeit zugrunde liegenden Gedankengang zur Diskussion zu stellen, da weiteres Arbeiten in gleicher Richtung wünschenswert erscheint, das vielleicht auch für die Praxis der Tuberkulosebekämpfung Konsequenzen haben kann.

Als Voraussetzung einer „stummen Infektion" hat zu gelten, daß der Infekt zwar haftet, aber durch spezifische oder andere Maßnahmen so klein gehalten wird, daß er die Schwelle der Manifestation nicht erreicht. Diese „stumme Infektion" kann nun durch Abdrosselung entweder in eine „latente" übergehen, oder, falls die Abdrosselung zu stark wirkt, zur absoluten biologischen Heilung führen. Der Effekt dürfte also eine Funktion der Abdrosselung sein. Ueber die natürlich verschiedene Auswirkung beider Möglichkeiten auf den Immunitätszustand kann nur das Experiment entscheiden. Würde die Tuberkuloseimmunität z. B. als eine „Infektionsimmunität" aufzufassen sein, so wäre bei absoluter Heilung durch Abdrosselung nicht mit dem Entstehen eines Immunitätszustandes zu rechnen!

Für die Tuberkulose schien der experimentelle Weg in der Weise vorgezeichnet, Abdrosselung mittels eines chemotherapeutischen Präparates zu versuchen, wobei wir uns beim vorliegenden Versuch des Sanocrysins bedienten. Neuere Versuche werden mit anderen Präparaten angestellt.

Das Prinzipielle des Versuches ist damit gesagt, alles andere sind Einzelheiten, deren qualitative und quantitative Umrisse jeder Modifikation unterliegen. Entspricht das Ergebnis der hier niedergelegten Versuche zunächst nicht den Erwartungen, so darf hieraus keineswegs der Beweis für die Unrichtigkeit des Gedankenganges abgeleitet werden, der vielmehr in umfangreicher Wiederholung unter Berücksichtigung der gemachten Beobachtungen einer weiteren Prüfung unterzogen werden muß.

Ein großer Teil der Versuchstiere (Meerschweinchen) ist in den ersten 2 Wochen während der Sanocrysinbehandlung eingegangen, so daß wir hierdurch leider gezwungen wurden, die Zahl der Kontrollen wesentlich einzuschränken. Im Folgenden wird über die Tiere berichtet, deren Verhalten einer einwandfreien Beurteilung unterliegt:

---

1) Vgl. Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 27. 34; 1926. Nr. 11; Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 46. 1926.

Versuchsreihe I.

Gruppe	Tier	Gewicht[1]	Erstinfektion + Abdrosselung[2]	Hauptinfektion[3]	Gewichte[4]	Lebensdauer[5]	Sektionsbefund[6]
a: Erstinfektion $^1/_{25}$ mg	334	200	$^1/_{25} + (1_3 + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{25}$ — 41	560 — 465	(†) 213, 161	I o, Lu (+), Le o, M ++, D o
	336	250	$^1/_{25} + (1_7 + 2_7 + 2_5)$	$^1/_{25}$ — 33	490 — 390	† 195, 143	I o, Lu +++, Le +++, M ++, D +
	339	200	$^1/_{25} + 0_{19}$	0 — 33	647 — 635	† 182, —	I o, Lu +++, Le +, M ++, D +
	340	250	$^1/_{25} + 0_{19}$	0 — 33	565 — 530	† 205, —	I o, Lu +++, Le +, M ++, D +
b: Erstinfektion $^1/_{100}$ mg	341	240	$^1/_{100} + (1_2 + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{25}$ — 41	588 — 513	(†) 213, 161	I o, Lu +++, Le +++, M +++, D ++
	342	270	$^1/_{100} + (1_3 + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{25}$ — 41	886 — 770	(†) 213, 161	I o, Lu +++, Le +, M ++, D ++
	344	290	$^1/_{100} + (1_7 + 2_7 + 2_5)$	$^1/_{25}$ — 33	475 — 395	† 201, 149	I o, Lu +++, L o, M +++, D ++
	347	205	$^1/_{100} + 0_{19}$	0 — 33	610 — 490	(†) 213, —	I o, Lu +, Le o, M ++, D +
	348	230	$^1/_{100} + 0_{19}$	0 — 33	555 — 550	† 200, —	I o. Lu +++, Le +, M ++, D +
c: Erstinfektion $^1/_{1000}$ mg	349	180	$^1/_{1000} + (1_3 + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{25}$ — 41	390 — 365	† 161, 109	I o, Lu +++, Le ?, M +++, D ++
	350	200	$^1/_{1000} + (1_3 + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{25}$ — 41	475 — 450	† 201, 150	I ?, Lu +++, Le +++, M ++, D ++
	377	220	$^1/_{1000} + (1_7 + 2_7 + 2_5)$	$^1/_{25}$ — 33	555 — 440	† 198, 146	I ?, Lu ++, Le +, M +++, D ++
	381	250	$^1/_{1000} + 0_{19}$	0 — 33	500 — 465	† 180, —	I ?, Lu +++, Le +++, M ++, D ++
Kontrollen	301	230	$0 + 0_{19}$	$^1/_{25}$ — 33	405 — 353	† —, 125	I ++, Lu +++, Le +++, M ++, D ++
	302	290	$0 + 0_{19}$	$^1/_{25}$ — 33	377 — 360	† —, 112	I ++, Lu +++, Le +++, M +++, D ++
	303	280	$0 + 0_{19}$	$^1/_{25}$ — 33	630 — 530	(†) —, 161	I +, Lu +, Le +, M ++, D ++

Versuchsreihe II.

Gruppe	Tier	Gewicht[1]	Erstinfektion + Abdrosselung[2]	Hauptinfektion[3]	Gewichte[4]	Lebensdauer[5]	Sektionsbefund[6]
a: Erstinfektion $^1/_{1000}$ mg	132	380	$^1/_{1000} + (1_{14} + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{1000}$ — 30	490 — 340	(†) 147, 95	I o, Lu +++, Le +++, M ++, D ++
	134	390	$^1/_{1000} + (1_{14} + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{1000}$ — 30	480 — 440	† 114, 62	I o, Lu +++, Le +++, M +++, D ++
	136	310	$^1/_{1000} + 0_{22}$	0 — 30	515 — 485	† 132, —	I o, Lu +++, Le +, M +, D ++
b: Erstinfektion $^1/_{100000}$ mg	138	390	$^1/_{100000} + (1_4 + 2_4 + 2_5)$	$^1/_{1000}$ — 39	545 — 525	(†) 147, 95	I +, Lu (+), Le o, M ++, D ++
	140	350	$^1/_{100000} + (1_4 + 2_4 + 2_5)$	$^1/_{1000}$ — 39	480 — 435	(†) 147, 95	I +, Lu +, Le (+), M ++, D ++
	144	300	$^1/_{100000} + (1_{14} + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{1000}$ — 30	425 — 360	(†) 147, 95	I +, Lu +++, Le +++, M +++, D ++
	146	230	$^1/_{100000} + (1_{14} + 2_4 + 2_4)$	$^1/_{1000}$ — 30	638 — 520	(†) 147, 95	I o, Lu +, Le o, M +, D ++
	147	200	$^1/_{100000} + 0_{22}$	0 — 30	495 — 470	(†) 147, —	I +, Lu ++, Le (+), M ++, D ++
	149	230	$^1/_{100000} + 0_{22}$	0 — 30	605 — 560	(†) 147, —	I o, Lu ++, Le o, M ++, D ++
Kontrollen	293	460	$0 + 0_{22}$	$^1/_{1000}$ — 30	550 — 505	(†) —, 95	I +, Lu +, Le o, M +, D +
	294	350	$0 + 0_{22}$	$^1/_{1000}$ — 30	420 — 410	† —, 78	I +, Lu +, Le ++, M ++, D +

Erklärungen zu beiden Tabellen: Zu 1) und 4) Gewichte bei Beginn des Versuches, Höchstgewicht während des Versuches und Gewicht des Tieres bei der Sektion. — Zu 2) es bedeutet z. B. $^1/_{25} + 1_3 + 2_4 + 2_4$: 3 Tage nach der Erstinfektion mit $^1/_{25}$ mg Tuberkelbazillen erhielt das Tier pro 100 g 1 mg Sanocrysin, 4 Tage später 2 mg auf 100 g Gewicht, wieder 4 Tage später nochmals 2 mg auf 100 g Gewicht. — Zu 3) es bedeutet z. B. $^1/_{25}$ — 41 : 41 Tage nach letzter Sanocrysinbehandlung Hauptinfektion mit $^1/_{25}$ mg Tuberkelbazillen. — Zu 5) † = gestorben, (†) = getötet. 1 Zahl = Lebensdauer in Tagen nach Erstinfektion. 2 Zahl = Lebensdauer in Tagen nach Hauptinfektion. — Zu 6) I = Infektionstelle der 2. Infektion (bei Gruppenkontrolle der 1. Infektion). Lu = Lunge, Le = Leber. M = Milz, D = Drüsen, o = o. B., + mäßige Tuberkulose, ++ und +++ starke Tuberkulose, +++ bei Le und M gleichzeitige Organvergrößerung.

Aus beiden Tabellen, die durch ihre Darstellungsweise einen guten Einblick in prinzipielle Einzelheiten der Versuchsanordnung gestatten, ist folgendes ersichtlich:

In Versuchsreihe I wurde die Erstinfektion in 3 verschiedenen Größen gewählt: $^1/_{25}$, $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ mg, in Versuchsreihe II wurde nur die Wirkung von $^1/_{1000}$ und $^1/_{100\,000}$ mg geprüft. Entsprechende Kontrollen jeder Gruppe ohne jede weitere Behandlung lassen erkennen, welches Ergebnis diese erste Infektion allein bewirkte[1]).

In den 3 Gruppen der Versuchsreihe I wurde nun versucht, diese Infektion mittels Sanocrysin zu drosseln resp. zur Ausheilung zu bringen. Diese Abdrosselungsversuche erfolgten intraperitoneal in 3 Phasen, und zwar die erste mit 1 mg, die zweite und dritte mit je 2 mg Sanocrysin auf 100 g Meerschweinchengewicht, wobei die zeitlichen Abstände der einzelnen Phasen in der aus den Tabellen erkennbaren Weise variiert wurden.

Die Hauptinfektion wurde in der ersten Versuchsreihe mit $^1/_{25}$, in der zweiten Versuchsreihe mit $^1/_{100}$ mg gesetzt, wobei die Zeit dieser Infektion in Versuchsreihe I 41 oder 33 Tage, in Versuchsreihe II 30 und 39 Tage nach der letzten Sanocrysinbehandlung gewählt wurde. (In der Uebersicht ist jedes Fehlen einer Infektion oder einer Behandlung an der entsprechenden Stelle mit 0 bezeichnet, die der 0 angefügten Ziffern geben die Anzahl der Tage an, die seit der letzten Infektion resp. Behandlung verstrichen sind.)

Die Gewichtsangaben betreffen das Ausgangsgewicht der Tiere bei Beginn des Versuches zur Zeit der Erstinfektion, ferner das Höchstgewicht während des Versuches und schließlich das Gewicht nach dem Tode. Das Höchstgewicht lag zeitlich meist ca. 4—5 Wochen vor dem Exitus, bei den getöteten Tieren meist kürzere Zeit.

Die Lebensdauer ist bei beiden Versuchsreihen auf die Erstinfektion und auf die Hauptinfektion bezogen. Wurden die Tiere getötet, so wird dieser Termin ebenfalls mit der Erst-, resp. Hauptinfektion in Beziehung gebracht.

Die kurzen markierten Angaben über den Sektionsbefund gewähren einen gewissen Einblick in den Stand der Infektion beim Tode des Tieres. Die Mannigfaltigkeit der Befunde steht im Einklang mit den allgemein zu machenden Beobachtungen bei Impfungen von Meerschweinchen mit einem äußerlich gleichwertig erscheinenden Infektionsmaterial.

Wenn von 3 Hauptkontrollen der Versuchsreihe I 2 Tiere nicht unwesentlich kürzer lebten als (bis auf eins) die übrigen Tiere des Versuches, so soll von uns diese Tatsache nur als ein Fingerzeig gewertet werden. Die Versuchsreihe II, bei der es mehr darauf ankam, zu bestimmter Zeit einen Einblick in den Stand der Tuberkuloseinfektion mittels Sektion zu erhalten, läßt kaum irgendwelche Gesetzmäßigkeiten erkennen.

Es würde oberflächlich sein, aus den Ergebnissen den Beweis erbracht zu sehen, daß es auf dem eingeschlagenen Wege nicht gelingt, einen Einfluß auf den Verlauf der Tuberkuloseinfektion zu erzielen. Wir haben es hier mit tastenden Vorversuchen zu tun, deren weiterer Ausbau, Vervollständigung und Entwicklung erst die Beantwortung dieser Frage zuläßt.

---

1) Der Stamm Typ. humanus wurde uns vom Hyg. Institut in Berlin freundlichst zur Verfügung gestellt.

Die experimentelle Erzeugung einer „stummen Infektion" wird ganz besonders bei der Tuberkuloseerkrankung nicht nur vom Versuchstier, von der Wertigkeit der Infektionsdosis (Virulenz und Menge) und von der Dosis des in seiner Wirkungsart noch als problematisch zu bezeichnenden Chemotherapeutikums abhängen, sondern von vielgestaltigen Wechselbeziehungen, Zeit zwischen Erstinfektion und Gabe des Chemotherapeutikums, Wiederholung dieser Gabe in differenzierten Zeitintervallen, Anzahl der Wiederholungen, Lage der Hauptinfektion nach der Erstinfektion oder verschieden weit zurückliegender Einwirkung des Chemotherapeutikums und von noch vielen Beziehungen zwischen den einzelnen Wirkungsfaktoren, die in der hier gewählten Anordnung nur angedeutet werden konnten.

Sind die versuchstechnischen Voraussetzungen in Form wirksamer Chemotherapeutika erfüllt und gelangen sie in richtiger Anordnung zu geeigneter Anwendung, dann werden wir auf dem eingeschlagenen Wege auch zu einem Urteil über die Bedeutung „Infektionsimmunität" bei Tuberkulose gelangen, oder wir werden unsere Vorstellungen über die sich im Tuberkuloseinfektionsprozeß abspielenden biologischen Reaktionen in andere Richtungen weisen müssen. Vorliegende Ergebnisse lassen erkennen, daß das Meerschweinchen zur Lösung dieser Fragestellung weniger geeignet ist, deshalb werden weitere in ihrer Anordnung gleichgerichtete Versuche am Kaninchen mit anderen Präparaten vorgenommen.

Zusammenfassung.

Unter Staffelung einer Tuberkuloseinfektion und Variation ihrer Drosselung mit Sanocrysin wurde im Meerschweinchenversuch eine „stumme Infektion" zu erzeugen gestrebt, deren Nachwirkung auf eine zweite Tuberkuloseinfektion geprüft wurde. Das Ergebnis verpflichtet zur Weiterarbeit in dieser Richtung, von deren Verlauf es abhängen wird, ob aus der Betrachtungsweise praktische Schlüsse für die Bekämpfung der Tuberkulose berechtigt erscheinen.

Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose.

[Aus dem bakteriologisch-serologischen Laboratorium der Stadt Essen, Krankenanstalten.]

Von Dr. **Joseph Hohn,**
Leiter des Laboratoriums.

Der kulturelle Nachweis des Tuberkelbazillus hat für die Diagnose der Tuberkulose bis jetzt so gut wie keine Bedeutung gehabt. In Fällen, beispielsweise bei Eiter und Urinsedimenten, wo die mikroskopische Untersuchung nicht zum Ziele führte, sah man sich auf das Tierexperiment angewiesen. Es war die allgemeine Ansicht, daß der Meerschweinchenversuch stets Klärung bringen werde, eine Ansicht, die nicht zu

Recht besteht; haben wir doch gerade in den letzten Jahren Stämme vom Menschen kennen gelernt, die für diese Tiere apathogen sind.

Die Züchtung des Tuberkelbazillus wurde mit Recht bisher als eine schwierige bakteriologische Methode angesehen, die überhaupt erst sehr langsam in Aufnahme gekommen ist und dann die Domäne von Speziallaboratorien blieb, die sich vornehmlich mit der Herstellung von Tuberkulinen befaßten. Obwohl unser Altmeister Robert Koch schon in seiner ersten Veröffentlichung über die Aetiologie der Tuberkulose im Jahre 1882 (1) ganz eingehend auch die Kultur des Tuberkelbazillus beschrieb und deren Ausführung bis ins kleinste darstellte, so daß diese Arbeit für jeden, der sich mit der Frage der Tuberkelbazillenzüchtung befaßt, noch heute grundlegend ist, so hat man sich anfänglich doch wenig mit ihr wegen der Schwierigkeit ihrer Ausführung befaßt. Erst als Robert Koch 1901 in London die Diskussion über die Frage der Beziehungen zwischen Menschen- und Rindertuberkulose eröffnete, wurde auch das Interesse für die Züchtung des Tuberkelbazillus in allen Kulturländern neu geweckt, ohne die die schwebenden Fragen nicht gelöst werden konnten. Jetzt erst wurden in großem Umfang Erfahrungen über die besten Kulturmethoden gesammelt, nachdem Robert Koch das Rinderserum als Standardnährboden angegeben hatte. Die Franzosen Nocard und Roux führten das Glyzerin als wertvollen Bestandteil in die Nährbodenzusammensetzung ein. Die Engländer Stanley, Griffith, Cobbet, Hutchens suchten das beste Tierserum für die Züchtung zu ermitteln. Der Russe Pawlowski gab die Kartoffel als Nährboden an, der Amerikaner Dorset fand den Einährboden, der dann später von Lubenau verbessert wurde. Erwähnen wir noch die Glyzerinbouillon, so haben wir die wichtigsten Nährböden genannt, die sich bis heute in der Züchtung des Tuberkelbazillus bewährt haben. Außer den angeführten ist noch eine große Zahl von Nährböden angegeben worden, wie bei keinem anderen Bakterium, was zeigt, wie groß das Interesse an der Tuberkelbazillenzüchtung stets gewesen ist und wie man, in dem Drang nach vorwärts auf dem schwierigen Gebiet der Tuberkelbazillenkultur und unbefriedigt von den bisherigen Resultaten, immer wieder neue Bahnen zu gehen versuchte.

Zur Diagnose der Tuberkulose durch Züchtung des Bazillus aus den Entzündungsprodukten haben aber alle diese Methoden nur in sehr bescheidenem Maße bisher gedient. Der einfache Grund hierfür ist der, daß das Wachstum des Tuberkelbazillus im Gegensatz zu anderen Erregern ein sehr langsames ist. Es dauert Tage, manchmal Wochen, bis die ersten, feinsten Kolonien sichtbar werden. Da das tuberkulöse Material sehr häufig mit anderen Bakterien vergesellschaftet ist, die eine viel raschere Wachstumstendenz haben — man denke nur an ein tuberkulöses Sputum — und man bis jetzt kein Mittel hatte, die Begleitbakterien am Wachstum zu hindern, ohne dabei die Vitalität des Tuberkelbazillus zu schädigen, so überwucherten die rasch wachsenden Mikroorganismen in kurzer Zeit den Nährboden und der Tuberkelpilz kam nicht auf.

Robert Koch und sein Schüler Kitasato hatten zwar schon aus tuberkulösem Auswurf die Tuberkelbazillen zu züchten vermocht, aber nur durch außerordentlich umständliche und in ihrem Endresultat recht unsichere Methoden, die mehr wissenschaftliches als praktisches Interesse beanspruchen. Uhlenhuth war es mit Antiformin, Speng-

ler mit Formalin, Twort mit Erikolin gelungen, aus Sputum Tuberkelbazillen zu züchten. Jedoch haben sich auch diese Methoden meist auf die Laboratorien der Autoren und einzelner Nachuntersucher beschränkt, in der Praxis aber wegen der Unsicherheit des Erfolges keinen Eingang finden können.

Durch die Arbeiten von Löwenstein und Sumiyoshi im Wiener serotherapeutischen Institut ist nun ein grundlegender Wandel in dem Züchtungsproblem des Tuberkelbazillus eingetreten. Durch ihre Arbeiten ist der kulturelle Nachweis des Tuberkelbazillus mit einem Schlage auf eine so sichere Grundlage gestellt worden, daß wir nunmehr mit derselben Exaktheit auch aus verunreinigtem Material die Tuberkelbazillen züchten können, mit der wir die Erreger anderer Infektionskrankheiten erfassen. Ich stehe nach meinen ausgedehnten Erfahrungen in der Tuberkelbazillenzüchtung im Verlaufe von mehr als einem Jahre mit der neuen Methode nicht an, zu sagen und will es durch die Resultate meiner Untersuchungen zeigen, daß durch die Ideen Löwensteins und die Arbeiten Sumiyoshis einer der größten Fortschritte in der Kultivierung des Tuberkelbazillus angebahnt worden ist, wodurch zugleich eine neue Etappe in der Diagnose der Tuberkulose durch die Kultur aus den Entzündungsprodukten begonnen hat.

Löwenstein zeigte zunächst, daß der Tuberkelbazillus eine ausgesprochene Resistenz gegen Basen und Säuren besitzt, so beispielsweise gegen 10proz. Schwefelsäure und Kalilauge. Der Autor veranlaßte auf Grund dieser Beobachtungen seinen Schüler Sumiyoshi, diese Versuche zur Grundlage von Reinzüchtungsversuchen zu machen. Der Gedanke und die Vorversuche Löwensteins erwiesen sich bei den Arbeiten Sumiyoshis äußerst fruchtbar. Es gelang, aus den Sedimenten der mit Schwefelsäure, Salzsäure, Milchsäure oder Natronlauge vorbehandelten Sputa die Tuberkelbazillen in Reinkultur zu gewinnen.

Das Verfahren von Sumiyoshi (2), wie er es im Mai 1924 herausbrachte, ist folgendes:

200 ccm Sputum werden mit 10 ccm 15proz. Schwefelsäure versetzt und zu einer feinen Emulsion gebracht. Dann läßt man die Säure $1/2$ Std. einwirken und zentrifugiert. Die Säure wird abgegossen und nunmehr das Sediment 2mal mit 0,85proz., steriler NaCl-Lösung gewaschen. Das Sediment wird endlich auf Spezialnährböden gebracht, wobei der Autor vor allem Glyzerinkartoffel empfiehlt.

Im September 1924 begannen wir mit der Nachprüfung dieser Methode. Wir sagten uns dabei von vornherein, daß die praktische Verwertung der Methode im Laboratorium illusorisch wird, wenn man 200 ccm Sputum verwenden muß. Nimmt man, wie das Pesch und Simchowitz (3) mit dem besten Erfolg getan haben, auch nur den zehnten Teil, also 20 ccm Sputum und 1 ccm Säure, so wäre auch damit die Brauchbarkeit der Methode eine nur beschränkte. Gleich bei dem ersten Versuch verwendeten wir 2 ccm Sputum und 10 ccm Schwefelsäure und hatten damit Erfolg. Löwenstein ist, wie ich aus einer neueren Arbeit von Schattner (4) ersehe, nunmehr auch zu diesen Mengenverhältnissen übergegangen.

Bevor ich auf die Ergebnisse unserer Züchtungen eingehe, will ich zunächst die Entwicklung der Methode darstellen, die sie in unserem Laboratorium genommen hat.

Wir benutzten gleich von Anfang als Nährboden neben Glyzerinkartoffel auch Eiernährboden nach Lubenau, hielten uns dabei zunächst an das Auswaschen des Sedimentes mit NaCl-Lösung. Es zeigte

sich bald, daß viele Verunreinigungen in den Kulturröhrchen auftraten. Je mehr man mit dem zu untersuchenden Material hantiert, desto größer ist die Gefahr der Verunreinigung. Die Gefahrenklippe liegt hier in dem zweimaligen Waschen mit steriler NaCl-Lösung, wodurch außerdem die Dauer der Vorbereitung zur Kultur um 20—30 Minuten verlängert wird, ganz abgesehen von der damit verbundenen Mehrarbeit.

Wir gingen daher nach einigen Monaten dazu über, das Sediment ungewaschen auf die Nährböden zu übertragen, wozu uns besonders die Arbeiten von Sanders u. a. eine gewisse Berechtigung gaben, die gezeigt hatten, daß die Tuberkelbazillen sauren Nährboden lieben. Als Säure benutzten wir anfangs 13proz. Schwefelsäure. Gleich die ersten Versuche waren erfolgreich.

Um dies Verfahren auszuproben, untersuchten wir eine Serie von 28 positiven Sputa, und zwar so, daß wir zunächst das ungewaschene Sediment auf Glyzerinkartoffel und Einährböden brachten, dann den Rest wuschen und ebenso verarbeiteten.

Es zeigte sich nun folgendes: Die Glyzerinkartoffel versagte fast völlig bei ungewaschenem Sediment, während auf den Eiröhrchen die Tuberkelbazillenkolonien dabei bedeutend üppiger und rascher wuchsen als bei gewaschenem. Gleichzeitig ergab sich, daß nicht alle positiven Sputa durch die Eiröhrchen erfaßt wurden; mehrere Proben blieben steril. Es bestand jedoch hier kein Unterschied, ob das Sediment ungewaschen oder gewaschen war. Damit stand fest, daß die Glyzerinkartoffel bei ungewaschenem Sediment nicht verwendbar ist; auf der anderen Seite mußten wir nunmehr versuchen, für den Einährboden die optimalsten Wachstumsbedingungen für die Tuberkelbazillen zu finden, so daß alle positiven Sputa in der Methode mit ungewaschenem Sediment erfaßt würden.

Bei der Herstellung der Eiröhrchen hielten wir uns in der Zusammensetzung und Technik an die des Kochschen Instituts, wie sie in der sehr guten Zusammenstellung von Kahlfeld und Wahlisch (5) angegeben ist. Der Nährboden besteht aus 3 Teilen Ei, sowohl Eigelb wie Eiweiß, und 1 Teil 5proz. Glyzerinbouillon. Wesentlich zur erfolgreichen Züchtung erwiesen sich jedoch nach eingehenden Untersuchungen außerdem noch folgende Erfordernisse bei der Herstellung des Nährbodens für die Tuberkelbazillenkultur.

Zunächst muß man ganz frische Eier zum Nährboden verwenden. Das Ei enthält an sich alle Nährstoffe in besonders vollkommener Zusammensetzung, und zwar dieselben, die auch im Körper der Tuberkelbazillus in den Geweben zu seinem Aufbau zur Verfügung hat, über die wir durch die eingehenden Arbeiten von Proskauer und Beck (6) unterrichtet sind: Fettwachslipoide, Asparagin, Leucin, Tyrosin, Lezithin, Aminosäuren, Phosphor-Kali-Magnesium-Natriumsalze. Diese Substanzen besitzt aber das Ei in unveränderter Weise nur in frischem Zustande. Rein äußerlich unterscheidet sich das frische Ei vom alten, dem sogenannten Kistenei, wie es in großen Betrieben gebraucht wird, dadurch, daß Dotter und Eiweiß eine viel festere Konsistenz haben. Während sich bei dem alten Ei Dotter und Eierklar nach dem Ausblasen spielend mischen, kann man das frische erst durch heftiges Schütteln mit Glasperlen dazu bringen. Auch erstarrt das frische Ei im Serumapparat viel rascher als das alte. Diese Zustände des Eies sind jeder Hausfrau bekannt zur Beurteilung der Güte desselben. Die leicht zerfließlichen Eier haben vielfach bereits einen

für beginnende Fäulnis verdächtigen Geruch. Während die Eier im Körper des gesunden Tieres keimfrei sind, beginnt das Eindringen von Bakterien mit dem Durchtritt durch die Kloake, weil die Schale für Wasser und Keime durchlässig ist. Die Bakterien spielen nun bei den Veränderungen, die das Ei mit der Zeit erleidet, eine große Rolle. Durch sie tritt zweifellos ein Abbau der Proteinsubstanzen ein, was dann zu den erwähnten Konsistenzveränderungen führt. Es ist nun nicht ganz einfach, stets frische Eier zur Hand zu haben, besonders nicht in den Monaten September, Oktober, November, Dezember, wenn das Legen der Hühner bei uns spärlich wird und teilweise ganz aufhört. Wir hatten stets frische Eier zur Verfügung, weil uns solche aus dem Bestand der Hühner der Krankenanstalten zur Hand waren. Im übrigen ist der Bedarf an Eiern für den Nährboden gering, wenn man bedenkt, daß im Durchschnitt aus 2 Eiern 24—28 Kulturröhrchen hergestellt werden.

Ein zweiter wichtiger Punkt bei dem Einährboden ist die Reaktion der zu verwendenden Bouillon. Es ist nämlich ausschlaggebend für günstige Züchtungsresultate, daß die Bouillon sauer reagiert, oder, wie man sich ausdrückt, „natursauer" ist. Wir haben uns hiervon in Parallelversuchen überzeugt, wobei sich zeigte, daß, wenn man alkalische Bouillon verwendet, das Wachstum sehr verzögert ist. Es erschienen z. B. in einem Versuch mit Abimpfung aus einer Tuberkelbazillenaufschwemmung auf Eiröhrchen mit natursaurer Bouillon die Kolonien schon nach 5 Tagen und wuchsen dann sehr üppig, während bei den Eiröhrchen mit alkalischer Bouillon erst am 13. Tage die ersten Kolonien sichtbar wurden und dann sehr spärlich blieben. Es ist schon durch die Arbeiten von Sander, Ficker, Siebert u. a. bekannt, daß der Tuberkelbazillus sauren Nährboden bevorzugt. Dasselbe hat neuerdings wieder Ishimori (7) in einer Arbeit dargetan, der zeigte, daß die Wachstumsgrenzen der echten Warmblütertuberkelbazillen in bezug auf die Reaktionsbreite des Nährbodens wesentlich enger ist, als die der saprophytischen säurefesten Stämme. Am zweckmäßigsten hat sich uns die Verwendung einer Bouillon aus Liebig-Fleischextrakt 1 Proz., Pepton 1 Proz., NaCl 0,5 Proz. ohne jeden weiteren Zusatz von Alkali ergeben. Diese Bouillon ist natursauer und hat eine fast konstante p_H von 6,3.

Der dritte wichtige Punkt, auf den geachtet werden muß, ist der Feuchtigkeitsgehalt des Eiröhrchens. Sind die Röhrchen trocken, ist das Kondenswasser geschwunden, dann sind sie zur Züchtung untauglich. Gegen nichts ist der Tuberkelbazillus bei der Züchtung so empfindlich wie gegen Austrocknung. Er bedarf zu seinem Wachstum einer mit Wasser gesättigten Atmosphäre, einer Treibhausluft. Die Bedingungen der Züchtung des Tuberkelbazillus sind daher mehr und mehr denjenigen der höheren Pilze ähnlich. Während die niedrigsten Mikroorganismen, die Kokken und Stäbchen, über Nacht heranwachsen, ist das Wachstum des Tuberkelbazillus ein langsames und dadurch zeigt sich schon, daß er zu einer höheren Gattung der Bakterien gehört. Das Kondenswasser, welches die Eiröhrchen bilden, ist nun im Gegensatz zu dem der Rinderserumröhrchen ein sehr geringes, und es war daher nötig, künstlich solches zuzufügen. Wir verwandten hierbei zuerst steriles, destilliertes Wasser, gingen aber bald auch hier zur natursauren Bouillon über. Wir setzen davon 0,5 ccm so zu, daß wir aus einer dünnen Pipette die Bouillon an der dem Nährboden gegen-

überliegenden Wand des Reagenzglases herunterlaufen lassen. Diese Röhrchen trocknen nicht aus, auch wenn sie wochenlang im Brutschrank gehalten werden. Es hat sich gezeigt, daß die ersten Kolonien fast stets unmittelbar über dem Kondenswasser erscheinen und die Bazillen dort zuerst zu üppigen, dicken, feuchten Kolonien heranwachsen oder daß sich vielfach überhaupt ihr Wachstum nur auf diese Zone beschränkt.

Einen sehr guten, dichten Verschluß, der die Röhrchen vor Verdunstung schützt, besitzen wir in dem Stopfen aus Zellstoff, der mit Ceresin durchtränkt ist und zuerst von R. Müller (8) angewendet worden ist. Ich hebe noch besonders hervor, daß die Eiröhrchen mit größter Sorgfalt im Serumapparat zum Erstarren gebracht werden müssen. Richtig hergestellte Röhrchen zeigen eine blanke Oberfläche ohne Dellenbildung[1]).

Die fertigen Röhrchen kommen zur Prüfung auf Sterilität 2 Tage lang in den Brutschrank. Verluste an Material durch Verunreinigung haben wir dabei nur sehr selten erlebt.

Als Haupterfordernis für einen guten Einährboden zur Tb.-Züchtung haben sich also, kurz zusammengefaßt, folgende Bedingungen ergeben: 1) Verwendung frischer Eier, 2) Zusatz von natursaurer Bouillon mit Glyzerin, 3) gute Erstarrung, spiegelglatte Oberfläche, 4) Zufügung von künstlichem Kondenswasser in Form von natursaurer Bouillon ohne Glyzerin, 5) guter Verschluß mit Zeresin-Zellstoffstopfen.

Außer der Frage des Nährbodens war weiterhin die Bestimmung des geeigneten Gehaltes der Schwefelsäure das wichtigste Erfordernis für die erfolgreiche Züchtung, da die Stärke der Säure bei ungewaschenem Sediment dem Einährboden angepaßt sein muß. Es zeigte sich dabei, daß die Vitalität des Tuberkelbazillus abhängig ist einmal von der Konzentration der Schwefelsäure, dann von der Zeit ihrer Einwirkung. Von ersterem kann man sich leicht überzeugen, wenn man mehrere Proben ein und desselben Sputums mit Schwefelsäuregemischen von wechselndem Gehalt behandelt und das Sediment auf Eiröhrchen bringt. Wir nahmen zu diesen Versuchen 2—15 Proz. Schwefelsäure, wobei sich zeigte, daß die obere Grenze für das Wachstum auf Eiröhrchen etwa 13—14 Proz. ist und daß das üppigste und schnellste Wachstum bei 2 Proz. erfolgte. Bei Anwendung einer 15proz. Schwefelsäure waren in einer Serie von 14 Sputa nur 4 positiv in der Kultur. Man sollte nun eigentlich zu dem Schluß kommen, möglichst die schwächste Säurekonzentration zu verwenden. Jedoch besteht dann die Gefahr, daß die Begleitbakterien nicht immer genügend abgetötet werden und damit die der Verunreinigung der Kultur. Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken werden schon bei 0,2proz. Schwefelsäure in $^1/_2$ Std. vernichtet; Bacterium coli ist etwas resistenter. Aber nun haben wir nicht nur mit diesen Bakterien zu rechnen, z. B. im Sputum, sondern außerdem mit einer uns in ihrer Resistenz ganz unbekannten Bakterienflora. Für die Praxis hat sich eine 10- und 12proz. Schwefelsäure bewährt. Erstere benutzen wir bei Sputum- und Eiterproben, letztere bei sehr reichlichem Bakteriengehalt, wie er manchmal in Urinsedimenten zu finden ist. Wir bevorzugen im allgemeinen die 10proz., während die 12proz. nur ausnahmsweise zur Anwendung kommt.

---

1) Als Erstarrungsapparat hat sich der Universalapparat von Lautenschläger, Nr. 1042 dfg vortrefflich bewährt.

Was die Zeit der Einwirkung der Säure anbelangt, so liegen die Verhältnisse ähnlich wie bei der Konzentration. Je kürzer die Dauer, desto üppiger das Wachstum. Für den praktischen Gebrauch hat sich uns die Einwirkung von 10proz. Schwefelsäure beim Sputum und Eiter für die Zeit von 20 Min. ausreichend gezeigt. Bei bakterienreichen Urinsedimenten, besonders wenn es gilt, aus Urin in nicht sterilen Flaschen z. B. in Bierflaschen etc., wie es uns passierte, die Tuberkelbazillen zu züchten, verwenden wir 12proz. Schwefelsäure 30 Min. lang. Es empfiehlt sich unter Umständen, beide Arten der Vorbehandlung nebeneinander anzuwenden, um des Erfolges sicher zu sein.

Bei der Vorbehandlung des tuberkulösen Materials mit Schwefelsäure benutzen wir sogenannte Schüttelröhrchen, also sterile, 22 cm lange Reagenzgläser mit eingeschliffenen Glasstöpseln. Darin läßt sich das Material mit Schwefelsäure zu einer feinen Emulsion kräftig schütteln. Für die Zeit der Einwirkung der Säure legen wir die Schüttelröhrchen horizontal auf ein Gestell, so daß die Säure gleichmäßig auf alle Teilchen einwirken kann, und wiederholen von Zeit zu Zeit das Schütteln. Wir verwenden stets 10 ccm Säure, mag es sich um viel oder wenig Material handeln. Zentrifugiert wird 5 Min. lang, und das Sediment dann mit der Platinöse unmittelbar auf die Eiröhrchen gebracht, von denen 3—4 zur Einzeluntersuchung benutzt werden.

Es zeigt sich zusammenfassend die interessante Tatsache, daß bei der Tuberkelbazillenzüchtung also zwei Wege zum Ziel führen, und zwar kann man mit gewaschenem, neutralem Sediment arbeiten nach dem Vorgehen von Löwenstein-Sumiyoshi oder mit ungewaschenem, saurem, wie wir es tun.

Wir übertragen bei dem ungewaschenen Sediment sogar reichlich Säure mit auf den Nährboden. Dasselbe ergibt dabei in der Prüfung mit Lackmuspapier die intensivste Rötung. Bei dieser Methode kann man aber nur mit den oben beschriebenen Eiröhrchen arbeiten. Wir haben uns dabei vorzustellen, daß ein Säureüberschuß durch das Eiweiß des Nährbodens gebunden wird, während im übrigen die Säure das Wachstum der Kolonien fördert. Erst durch die Herübernahme von Schwefelsäure mit dem Sediment erhält der Nährboden seine saure Beschaffenheit, während die fertige Eimischung gegen Lackmus ganz schwach alkalisch reagiert (pH = 7,1). Es wird nun auch hier der Grund ersichtlich, weshalb es für die Konzentration der Schwefelsäure bei diesem Verfahren eine engere Grenze geben muß als bei gewaschenem Sediment.

Der andere Weg ist der von Löwenstein. Er legt den größten Wert auf gründliches Auswaschen des Sediments und ist von 2maligem Waschen sogar zu 3maligem übergegangen, wie ich der Arbeit von Schattner (4) entnehme. Die Sedimente sind dann gut gewaschen, wenn sie neutrale Reaktion gegen Lackmus geben. Das Sediment wird auf Glyzerinkartoffel weiter verarbeitet. Nach unseren Untersuchungen ist der Kartoffelnährboden nicht imstande, die Säure zu binden, und daher ist dieser Nährboden zur Kultivierung der Tuberkelbazillen aus saurem, ungewaschenem Sediment nicht verwendbar.

Kurz zusammengefaßt sind die Wege der Tuberkelbazillenzüchtung die beiden: neutrales, gewaschenes Sediment: **Glyzerinkartoffel**; saures, ungewaschenes Sediment: **Einährboden**. Der kürzere und einfachere Weg, der nach unseren Erfahrungen auch die

schnelleren Resultate erzielen läßt, ist das letztere Verfahren, mit dem wir jetzt ausschließlich schon lange Zeit arbeiten.

Als Testobjekte für die Untersuchungen dienten uns in ausgedehntem Maße Sputa, wie sie im Laboratorium stets zur Verfügung stehen. Wir sind der Meinung, daß gerade die Sputa die schwierigsten Untersuchungsobjekte hierzu sind. Wenn daher unsere Methodik für diese geeignet ist, dann ist sie es sicherlich für tuberkulösen Eiter, mag er stammen woher auch immer. Die Untersuchung des Auswurfs ist deshalb besonders schwierig, weil die Säure koagulierend auf den Schleim, der in wechselnder Menge und Beschaffenheit darin enthalten ist, wirkt und dadurch die verschiedensten Sedimente entstehen, deren Uebertragung auf den Nährboden sich recht unterschiedlich gestaltet. Am einfachsten zu verarbeiten sind die salbenartigen Sedimente, die sich wie Eiter leicht ausstreichen lassen. Sie erscheinen aber kaum in der Hälfte der Fälle. Schwierigkeiten bieten die gelatinösen Sedimente, die fadenziehenden, dann ferner die zu einem Klumpen zusammengeballten, so daß man mit der Nadel einzelne Teilchen abspalten und auf die Oese heben muß. Ein weiterer Grund für die Schwierigkeit der Kultivierung der Tuberkelbazillen aus Sputum besteht in der Vitalität des Erregers selbst. Wer sich viel mit dieser Art der Züchtung beschäftigt, macht die Erfahrung, daß häufig eine Differenz besteht zwischen der Zahl der Bazillen im gefärbten Präparat und den nachher aufgehenden Kolonien. Wir können es erleben, daß beispielsweise bei Gaffky 8 nur wenige, einzelne Kolonien erscheinen und bei Gaffky 2 ganz üppiges Wachstum eintritt. Letzteres beobachtet man besonders dann, wenn sich Blutbeimengungen im Auswurf finden, also bei frischen tuberkulösen Prozessen. Wir können uns den Unterschied nur so erklären, daß bei alten phthisischen Vorgängen viele Bazillen als „Leichen" an die Außenwelt gelangen oder daß sie so in ihrer Vitalität geschwächt sind, daß die Schwefelsäure sie vollends tötet. Aus diesen Beobachtungen würde sich für die Hygiene der Lungentuberkulose die Folgerung ergeben, daß nicht der Chronisch-Kranke mit massenhaftem Auswurf und zahlreichen Tuberkelbazillen der infektiösere ist, sondern der Akut-Erkrankte mit geringem Auswurf und wenig Bazillen, der bei dem ständigen Hustenreiz in den Tröpfchen die resistenten Keime in seiner Umgebung verstreut. Bei den Eiter- und Urinproben handelt es sich größtenteils, wenn sie zur Untersuchung gelangen, um relativ frische tuberkulöse Prozesse, besonders im Vergleich zu den Lungenaffektionen. Wenn hier auch häufig genug recht wenig Bazillen vorhanden sind, so kommen sie doch alle zum Wachstum. Wir sind also berechtigt zu sagen, daß der Wertmesser unserer Methode die Untersuchung der Sputa ist. Die letzte Serienuntersuchung, die wir mit 62 Sputa durchführten, so wie sie ins Laboratorium eingeliefert wurden, nach der besprochenen Methode: 1—2 ccm Auswurf, 10 ccm 10proz. Schwefelsäure, 20 Min. Einwirkungsdauer, direkte Uebertragung des ungewaschenen Sediments auf Eiröhrchen von obiger Beschaffenheit, fiel ausnahmslos positiv aus. Es waren darunter alle Arten der Sedimente vertreten von den salbenartigen bis zu den gelatinösen und geklumpten; desgleichen waren alle Mengenverhältnisse der Bazillen im gefärbten Präparat vorhanden von Gaffky 1—2 bis Gaffky 8—9. Was die Zeit anbelangt bis zum ersten Erscheinen der mit der Lupe eben sichtbaren Kolonien, so kommen wir auf einen Durchschnitt von 10,5 Tagen. Die kürzeste Zeit betrug 8 Tage, die längste 27.

Solche Serienuntersuchungen, wie überhaupt die gesamte Tb.-Züchtung erfordern viel Geduld. Vor dem 8. oder 9. Tage ist es zwecklos, die Röhrchen nachzusehen; dann aber beginnt die Zeit, wo mit dem ersten Erscheinen der Kolonien bei unserer Methode gerechnet werden kann. In manchen Fällen verzögert sich das Wachstum, und zwar manchmal, wenn entweder schon mikroskopisch nur ganz vereinzelte Bazillen vorhanden waren oder aber besonders dann, wenn es sich um schwer übertragbare Sedimente handelte. Wenn bei Sputa bis zum 21.—23. Tage keine Kolonien wachsen, dann kann man im allgemeinen — Ausnahmen kommen vor — bei Einährboden mit einem negativen Ergebnis rechnen. Wir geben ein solches vorläufig aber erst am 32. Tage ab, lassen die Röhrchen dann trotzdem bis zum 42. Tage = 6 Wochen im Brutschrank stehen. Es ist das im allgemeinen der äußerste Termin, bis zu dem man bei Eiröhrchen mit dem Angehen der Kolonien rechnen kann. Bei bestimmtem Verdacht der Tuberkulose tut man gut, die Kulturröhrchen über 42 Tage weiter zu beobachten. Man erlebt dabei manchmal Ueberraschungen. Wer die größte Beobachtungsgeduld bei der Züchtung der Tb.-Bazillen hat, wird die besten Resultate erzielen. Bei der Glyzerinkartoffel muß die Beobachtungsdauer nach unserer Erfahrung mindestens bis zu 3 Monate ausgedehnt werden.

Von der größten Wichtigkeit bei der Verarbeitung der Sputa ist der sachgemäße Ausstrich des Sedimentes auf den Einährboden. Besonders bei den fadenziehenden, geklumpten, zähen Sedimenten muß dafür gesorgt werden, daß durch anhaltende, kreisförmige Bewegungen mit der Oese, 3mal über die ganze Fläche des Nährbodens das Material und damit die Tb-Bazillen in unmittelbare Berührung mit dem Nährsubstrat gebracht werden, ohne dabei dasselbe durch Druck mit der Oese zu schädigen. Bleiben die Tb-Bazillen in dem schlecht ausgestrichenen, geklumpten Material stecken ohne Kontakt mit dem Einährboden, dann ist ein Wachstum unmöglich. Man nehme auch nie zu viel Material bei der Uebertragung, wie es mit Vorliebe weniger Geübte leicht machen, in der Annahme, je größer die Menge desto sicherer der Erfolg, sondern sei auch gerade bei eitrigen Sedimenten eher etwas sparsam. Ganz bestimmte Regeln über die Mengenverhältnisse lassen sich hierbei nicht aufstellen; es ist das mehr Sache der Uebung und Erfahrung. Ich rate für den Anfang, eine Normalöse zu verstreichen. Ich hebe hier gerade auch diese technischen Dinge hervor, weil ich aus Erfahrung weiß, wie sehr davon das Gelingen der Kultur häufig abhängt.

Wir halten die Schwefelsäure für das geeignetste Mittel zur Abtötung der Begleitbakterien. Gelegentlich verwendeten wir dazu auch Salzsäure oder Salpetersäure, sahen jedoch davon nichts Gutes. Sorányi und Putnoky (9) hatten mit 25proz. Salzsäure bei einer Einwirkungsdauer von 15 Min. gute Resultate.

Für die Sputa, so gute Testobjekte sie auch zur Erprobung unserer Methoden sind, kommt die Kultur nur in beschränktem Maße in Frage. Hier genügen vor wie nach die bewährten Färbe- und Anreicherungsverfahren. Immerhin wird man auch bei ihnen zur Züchtung übergehen, wie wir das auch mit bestem Erfolg getan haben, wenn man bei einem bakterienreichen Sputum nicht klar ist über die Natur der vorhandenen säurefesten Stäbchen oder wenn man, bei Verdacht der Tuberkulose, trotz häufiger Untersuchung keine Bazillen findet.

Seit Beginn unserer Untersuchungen haben wir bis jetzt 635 Züchtungen auf Tuberkelbazillen vorgenommen, was einem Verbrauch von rund 2540 Kulturröhrchen entspricht.

Ich komme nun zu den Ergebnissen, die wir mit der Züchtung der Tuberkelbazillen aus Eiter und Urin hatten. Viele dieser Untersuchungen wurden vorgenommen, während wir noch mit der Durcharbeitung der Methode beschäftigt waren. Aus der Zusammenstellung wird sich ergeben, welche große Bedeutung nunmehr die kulturelle Untersuchung für alle medizinischen Disziplinen gewinnt, die sich mit der Tuberkulose befassen, so namentlich für die Chirurgie, Urologie, Gynäkologie, Pädiatrie. Auch für die pathologische Anatomie und die Veterinärmedizin gilt das, wie ich an einem kleinen Material zeigen will. Wenn, wie bei all unserem Tun, auch hier eine gewisse Spannung besteht zwischen Ideal und Wirklichkeit, so wird sich doch aus dem

verarbeiteten Material ergeben, daß wir durch die Kultur des Tuberkelbazillus einen deutlichen Schritt in der Diagnose der Tuberkulose aus den Produkten der Entzündung weitergekommen sind.

In der folgenden Tabelle habe ich 68 positive Eiterproben zusammengestellt, um das Verhältnis der Kultur zu den mikroskopischen Befunden aufzuzeigen.

	Summa	Nur in Kultur positiv	Auch mikroskopisch positiv	Mikroskopisch zweifelhaft, Kultur negativ
1. Pleurapunktate	6	3	3	0
2. Drüseneiter	6	4	2	0
3. Senkungsabszesse	14	8	6	0
4. Knocheneiter	21	14	7	0
5. Subkutane Abszesse	13	6	4	3
6. Kniegelenkseiter	6	2	4	0
7. Bauchabszesse	2	2	0	0
	68	39	26	3

Rechnet man die Zahlen in Prozente um, so ergibt sich, daß

1. **nur in der Kultur positiv waren:** 39 = 57 Proz.
2. **auch mikroskopisch „ „** 26 = 38,1 „
3. **mikroskopisch zweifelhaft, Kultur negativ** 3 = 4.9 „

Es ergibt sich also, daß die Kultur in 57 Proz. der mikroskopischen Untersuchungen der Eiterproben überlegen war, und darin liegt die große Bedeutung der Methode für die Diagnose der Tuberkulose.

Die Kultur hat auch ihren Wert für die mikroskopisch positiven Eiterproben. Jeder, der sich mit der Untersuchung von tuberkulösem Eiter befaßt, weiß, daß es zu den Seltenheiten gehört, dabei einmal reichlich wohlcharakterisierte Tuberkelbazillen zu finden. In der überwiegenden Mehrzahl entdeckt man nur ganz vereinzelte säurefeste Stäbchen, manchmal nur ein einzelnes. Und da ist es zur Sicherung der Diagnose dann sehr wertvoll, auch die Bestätigung durch die positive Kultur zu haben.

Bei den Eiterproben haben wir meist auch eine Kultur mit dem frischen, nicht vorbehandelten Material angelegt. Wir konstatierten dabei fast immer, daß wenn keine Verunreinigungen durch Begleitbakterien auftraten, die Tb.-Kolonien bedeutend spärlicher erschienen und langsamer wuchsen, als aus den H_2SO_4-Sedimenten. Es ist das auch ganz verständlich, wenn man bedenkt, wie ungleich die Verteilung der Bazillen in tuberkulösem Eiter ist und welche Anreicherung in den Sedimenten aus dem behandelten Material vorhanden ist.

Einen Versuch will ich hier noch erwähnen über die Lebensdauer von Tb.-Bazillen in solchen Eitersedimenten. In einem gewaschenen Sediment eines Senkungsabszesses, welches im Zentrifugenröhrchen im Eisschrank aufbewahrt wurde, konnten bis zum 60. Tage die Bazillen durch die Kultur nachgewiesen werden. Am 90. Tage blieb die Kultur steril.

In mehreren Fällen von Mischinfektion zeigte sich die Anlage einer Tb.-Kultur bei Eiterproben von großer Bedeutung. Ich führe als wichtigsten den letztbeobachteten Fall dieser Art an: Der Eiter eines Abszesses aus der Gegend des Trochanter, von der chirurg. Abteilung des Kruppschen Krankenhauses eingesandt, enthielt mikroskopisch zahlreiche, in langen Ketten liegende Streptokokken, keine Tb.-Bazillen. Der 24 Jahre alte Patient war vor 4 Jahren an der gleichen Stelle wegen einer Knochen-Tb. operiert worden und kam jetzt wegen des Abszesses mit hohem Fieber und schlechtem Allgemeinbefinden in Behandlung. Der einsendende Kollege hatte gleichzeitig um Tb.-Kultur gebeten. Die Kultur auf Blutagar ergab reichlich Kolonien von hämolytischen Streptokokken. In der Tb.-Kultur wuchsen nach

16 Tagen einzelne, verstreut liegende Tb.-Kolonien. Solche Fälle haben wir, wie gesagt, noch mehrere erlebt. Bei dringendem klinischen Verdacht auf Tb. sollte man also auch beim Vorhandensein typischer Eitererreger nicht versäumen, eine Tb.-Kultur anzulegen.

Erläuternd wäre noch einiges zu sagen zu den 3 Fällen mit mikroskopisch zweifelhaftem Befund und negativem Kulturergebnis, die sich alle in der Rubrik „subkutane Abszesse" finden. In dem einen Falle handelte es sich um einen Abszeß an der Schulter nach einer allgemeinen Furunkulose. In dem Eiter fanden sich außer 2 säurefesten Stäbchen mikroskopisch und kulturell Staphylokokken. Vorausgegangen war ein Abszeß in der Achselhöhle. In dem 2. Falle bestand ein Abszeß in der Achselhöhle; auch hier fanden sich mikroskopisch nur 1 oder 2 säurefeste Stäbchen. Im 3. Falle stammte der Eiter aus einem kleinen Herd an der rechten Halsseite; es wurde 1 säurefestes Stäbchen gefunden. Wir wissen, daß gerade die Haut der Sitz von säurefesten Stäbchen aus der Gruppe der Saprophyten sein kann, so die Achselhöhle, die Leistenbeuge, das Praeputium. Daher ist wohl mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß es sich in den 3 Fällen um solche handelte. Ganz sicher ist es in dem 1. Falle, wo eine Staphylomykose bastand.

Dieselben guten Untersuchungsresultate, vielleicht noch bessere, zeitigten die Urinuntersuchungen. Wenn auch die Zahl der positiven nicht gar groß ist, so erhalten diese Untersuchungen dadurch eine besondere Bedeutung, daß wir auch allen negativen Befunden nachgegangen sind und wir deren Uebereinstimmung mit der Klinik ausnahmslos festgestellt haben.

Im ganzen untersuchten wir 51 Urinproben. Davon waren 31 negativ. Der Befund der 20 positiven Proben in ihrem Verhältnis zu der mikroskopischen Untersuchung geht aus der folgenden Zusammenstellung hervor:

Von den 20 positiven Proben waren:

1. in der Kultur positiv		20	= 100	Proz.
2. mikroskopisch „		7	= 35	„
3. a) mikroskopisch negativ	6	13	= 65	„
b) „ zweifelhaft	7			

Die Kultur war also der mikroskopischen Untersuchung in 65 Proz. überlegen. Da alle positiven Fälle durch die Kultur erfaßt worden sind und in zweifelhaften Fällen die Kultur den Ausschlag gab, so liegt es durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß nunmehr die Kultur den Tierversuch ersetzt, zumal diese viel schneller eine Entscheidung bei positiven Fällen herbeiführt als das Tierexperiment.

Um aut einzelne Proben einzugehen, so enthielt gleich die erste massenhaft Bacterium coli; mikroskopisch konnten darin nur einzelne säurefeste Stäbchen festgestellt werden. Der Urin wurde in einer nicht sterilisierten Medizinflasche übersandt. Die Kultur ergab üppiges Wachstum von Tuberkelbazillen. Zwei weitere Proben wurden ebenfalls in nicht sterilisierten Flaschen, die eine davon in einer Bierflasche, eingeliefert. Letztere Probe enthielt außer zahllosen anderen Bakterien auch Hefezellen. In beiden Proben fanden sich säurefeste Stäbchen, die zur Diagnose der Tuberkulose bei diesem Befund nicht zu verwerten waren; auch zum Tierversuch wären die Sedimente bei dieser Bakterienflora wenig geeignet gewesen. Die Kultur ergab üppiges Wachstum von Tuberkelbazillen.

Ich will dann noch einen Fall von Urinuntersuchung, und zwar den letzten in der Statistik verwandten ausführlich anführen, um daran den Gang der Untersuchung, die Wirksamkeit der Methode und den Fortschritt gegen früher zu zeigen: Am 23. Dez. 1925 wird ein Urin in einer Medizinflasche (150 ccm) zur Untersuchung auf Tuberkelbazillen eingesandt. Die Probe stammt von einem 20 Jahre alten Mädchen. Der Urin ist mäßig getrübt, das Sediment enthält reichlich Leukozyten, daneben einzelne säurefeste Stäbchen, stellenweise in Nestern liegend und wenig Kokken. Zur Kultur wird die gesamte Menge in 4 Röhrchen auszentrifugiert. Die 4 Sedimente werden mit je 1 ccm 10proz. H_2SO_4 versetzt, aus den Zentrifugenröhrchen nach Aufrühren mit einer Nadel in ein Schüttelröhrchen gegossen und 6 ccm 10proz. H_2SO_4 zugefügt. Nach kräftigem Schütteln wird das Röhrchen horizontal gelagert und von Zeit zu Zeit wieder geschüttelt. Nach 20 Min. Ueber-

gießen der H_2SO_4-Suspension in ein steriles Zentrifugenglas und 5 Min. langes Ausschleudern. Abgießen der überstehenden H_2SO_4 und Uebertragen des salbenartigen Sedimentes mit Platinöse auf 3 Eiröhrchen. 1 Röhrchen verunreinigt; auf den beiden anderen erscheinen am 31. Dez. 1925, also nach 8 Tagen, mit der Lupe eben sichtbare Kolonien. Am 2. Jan. 1926, nach 10 Tagen, sind die beiden Kulturen bereits so üppig gewachsen, daß ein mikroskopisches Präparat angefertigt werden kann, welches typische Tuberkelbazillen ergibt. Das Resultat wird als positives mitgeteilt. Die Kulturen wachsen dann noch sehr üppig weiter. Es handelt sich in dem Falle, nach dem starken und raschen Wachstum der Bazillen zu urteilen, um eine frische Tuberkulose.

Wie wenig das Wachstum des Tuberkelbazillus durch die Herübernahme von Schwefelsäure auf den Nährboden leidet, vielmehr begünstigt wird, möge folgender Fall einer Urinuntersuchung zeigen: Von der chirurgischen Klinik wurden ca. 12 ccm Urin zur Untersuchung auf Tuberkelbazillen gebracht. Nach dem Zentrifugieren entnahm die Assistentin dem an sich äußerst spärlichen Sediment mehrere Oesen, ließ antrocknen und stellte Tuberkelbazillen fest. Der Rest wurde im Eisschrank zur Tb.-Kultur aufgehoben, die ich erst am nächsten Tage anlegte. Nach dem Zentrifugieren der Schwefelsäurensuspension blieb ein sichtbares Sediment nicht mehr übrig. Ich entnahm dem wasserklaren Sediment, das nur aus H_2SO_4 zu bestehen schien, 4 Oesen und brachte sie aut ein Eiröhrchen in der sicheren Annahme, daß die Kultur nicht angehen würde. Am 13. Tag wurden bei der Nachschau einzelne Tb.-Kolonien festgestellt, nach einer weiteren Woche wuchsen im ganzen 40 Kolonien aus. Die später vorgenommene Operation ergab linksseitige Nierentuberkulose. Es handelte sich dabei um die frische Form der Tuberkulose mit rezenter Aussaat von Knötchen im Gewebe selbst, im Nierenbecken und Urether ohne Verkäsung. Ich verweise hier auf das schon früher Gesagte über die Vitalität der Tuberkelbazillen bei frischen tuberkulösen Prozessen.

In bezug auf die Lebensdauer der Tuberkelbazillen im Urin machten wir die folgende Beobachtung: 200 ccm Tb.-Urin werden in einem Erlenmeyer-Kölbchen aufgefangen. 60 ccm werden sofort zur Kultur verwandt, der Rest wird im Eisschrank aufgehoben. Nach 8 und 14 Tagen werden dann weitere 60 ccm entnommen und zur Kultur auszentrifugiert. Aus der 1. Probe erscheinen schon nach 8 Tagen üppige Kulturen. Auch aus den nach 8 und 14 Tagen verarbeiteten Proben wachsen zahlreiche Tb.-Kolonien, doch dauert es etwas länger in beiden Fällen: 14 Tage bis zum ersten Erscheinen; auch ist das Wachstum nicht so üppig. Wenn also auch im Verlauf der 14 Tage viele Tuberkelbazillen zugrunde gingen, so blieben doch noch genug lebens- und kulturfähig übrig.

In der Zeitdauer ist die Kultur dem Tierversuch durchaus überlegen. Nehme ich den Durchschnitt sämtlicher positiven Kulturen der Urinproben, so komme ich auf 16,3 Tage; dabei war die kürzeste Dauer 8 Tage, die längste 25. In einem Falle gelang es auch, vermittels der Kultur die topische Diagnose zu sichern in Uebereinstimmung mit der Klinik: in der Blase und dem Urin der rechten Niere fanden sich kulturell Tuberkelbazillen, im linken Nierenurin keine.

Noch ein paar Worte zur kulturellen Untersuchung von Urinproben auf Tuberkelbazillen im allgemeinen. Wir bekommen häufig Urine zur Tuberkelbazillenkultur zugesandt, deren Menge gering ist, die auch kein nennenswertes Sediment ergeben; es handelt sich dabei meist um Ureterenurin. Steht Tuberkulose in einem Falle in Frage, so halte ich es für zweckmäßig, nicht direkt Ureterenurin zu entnehmen, sondern zunächst einmal aus einer größeren Menge Blasenurin den kulturellen Nachweis zu führen und dann erst zu versuchen, die topische Diagnose durch Ureterenurin zu sichern, was dann meist sehr einfach ist, vielfach allein schon durch die mikroskopische Untersuchung der getrennt aufgefangenen Proben. Gerade die Sedimente spielen bei der kulturellen Untersuchung auf Tuberkelbazillen eine große Rolle, sind es doch gerade die korpuskulären Elemente, wie die Leukozyten, die das Sedimentieren der Tuberkelbazillen in den H_2SO_4-Suspensionen beim Zentrifugieren fördern, indem sie die Bazillen mit sich reißen. Die Zellen werden dabei in keiner Weise durch die H_2SO_4

äußerlich geschädigt. Daher ist auch Urin, der kein Sediment ergibt, für unsere Methode meist ungeeignet, ganz abgesehen davon, daß die Diagnose der Tuberkulose dabei von vornherein höchst unwahrscheinlich ist; denn das erste, was der Tuberkelbazillus macht, ist eine zelluläre Veränderung in den Geweben, bestehend in einer Ansammlung von Lympho- und Leukozyten. Reine Ausscheidungen von Tuberkelbazillen ohne Entzündungsprodukte kommen als Ausdruck einer Tuberkulose wohl nicht vor.

Der eingelieferte, frisch gelassene Urin, am besten ca. 100—200 ccm, wird zur Untersuchung, wenn nötig, ganz durchzentrifugiert. Dann spült man die Sedimente aus den Zentrifugenröhrchen je nach dem Bakterienreichtum mit 10- oder 12proz. Schwefelsäure in einer Gesamtmenge von 10 ccm in das Schüttelröhrchen und verfährt im übrigen wie bei Eiterproben.

Als weiteres Material zur kulturellen Untersuchung vermittels der Eiröhrchen verwendeten wir die tuberkulösen Lumbalflüssigkeiten. Im ganzen untersuchten wir 22 Lumbalpunktate kulturell. Davon waren 3 in der Kultur negativ und 2 im mikroskopischen Präparat. Die Untersuchung wurde so vorgenommen, daß aus dem wasserklaren Sediment einfach mehrere Oesen auf den Einährboden gebracht wurden. Es wachsen entsprechend dem spärlichen mikroskopischen Befund meist nur wenige Kolonien, manchmal nur eine einzige. Die Kultur hat hier im allgemeinen keine große praktische Bedeutung; denn die mikroskopische Untersuchung klärt die meisten Fälle schon hinreichend auf. Finden wir mikroskopisch keine Tuberkelbazillen, so ist der zytologische Befund der Lumbalflüssigkeit in Verbindung mit dem Eiweißgehalt und dem wasserklaren Aussehen des Punktates so charakteristisch für Tuberkulose, worauf ich (10) 1911 hinwies, daß im Zusammenhang mit der Anamnese und dem klinischen Verlauf auch ohne den Bazillennachweis die Diagnose auf Tuberkulose gestellt werden kann. Es gehört dazu allerdings ein Zusammenarbeiten von Klinik und Laboratorium. Die Tuberkelbazillenkultur bei Meningitis kommt fast immer erst dann heraus, wenn die Patienten gestorben sind, und ist deshalb von geringerer Bedeutung für die Praxis. Die Kultur ist allerdings dann von großem Wert, wenn es sich um die Frage eines geheilten Falles handelt, wie er erst kürzlich wieder von Koch (11) beschrieben worden ist.

Es lag nun nahe, die Kulturmethode auch zur Züchtung von Tuberkelbazillen aus Darminhalt zu verwenden. Gleich der erste Fall vom 28. 9. 25 fiel positiv aus. Es handelte sich um eine Patientin aus der Lungenfürsorge mit offener Lungentuberkulose und Durchfällen. Die Stuhlprobe war dünn, von fäkulentem Geruch, hier und da zeigten sich einige Blutstreifchen. Die Untersuchung mit Antiformin ergab einzelne säurefeste Stäbchen. Die kulturelle Verarbeitung wurde erst nach 48 Std. vorgenommen. Zur Vorbehandlung wurde 12proz. H_2SO_4 30 Minuten lang angewandt. Es wurden 4 Kulturröhrchen angelegt: 1 Röhrchen verunreinigte, 1 blieb steril, die beiden anderen zeigten nach 22 Tagen Tuberkelbazillenkolonien in typischer Form und von charakteristischem mikroskopischen Befund. Auf dem einen Röhrchen wuchsen 2 Kolonien, auf dem anderen 7. Es dürfte dies wohl der erste gelungene Züchtungsversuch von Tuberkelbazillen aus Darminhalt in der Literatur sein. Der 2. Fall betraf einen schwerkranken Tuberkulösen der Tuberkulose-Abteilung der Krankenanstalten. Hier wuchsen nach 16

Tagen auf 6 von den 8 angelegten Kulturen reichlich Tuberkelbazillen-Kolonien; 2 Röhrchen blieben steril. Wir hatten hier bei einem Teil des Materials 10proz., beim anderen 12proz. H_2SO_4 verwendet. Gegenüber den Züchtungen aus Auswurf muß die Ausbeute an Kolonien bei Fäzes als dürftig bezeichnet werden. Außer diesen beiden Fällen wurden bis jetzt noch 3mal aus Fäzes die Tuberkelbazillen gezüchtet, so daß die Gesamtzahl der positiven Fälle 5 beträgt.

Es gelingt nun aber nicht bei allen Fäzesproben, mit 12proz. H_2SO_4 die Begleitbakterien mit Sicherheit abzutöten. Ueber meine Erfahrungen darüber möchte ich ganz allgemein sagen, daß dies anscheinend nur dann der Fall ist, wenn bei Erkrankungen des Darmes die Darmflora ebenfalls verändert ist, wie das bei Darmtuberkulose der Fall ist. Nur der Säuglings- und Kleinkinderstuhl machen hier eine Ausnahme. Dabei wurden bis jetzt mit Regelmäßigkeit auch bei normalen Stühlen die Bakterien abgetötet, so daß die Kulturen steril blieben. Solche Resistenzprüfungen haben wir bei Kinderstühlen im ganzen 16mal ausgeführt. Es dürfte sich daher die Tuberkelbazillen-Kulturmethode der Fäzes zur Diagnose vor allem für Säuglinge und Kleinkinder empfehlen, bei denen bekanntlich die Diagnose der Tuberkulose häufig auf große Schwierigkeiten stößt. Mit der gelungenen Kultur ist die Erkrankung festgestellt, mag es sich dabei um verschluckte Bazillen handeln oder um solche von Darmgeschwüren. Es würde eine lohnenswerte Aufgabe der Kinderkliniken sein, weitere Versuche in der angedeuteten Richtung zu machen. Ich halte sie für recht aussichtsreich.

Die beschriebene Züchtungsmethode hat endlich ihren Wert für die pathologische Anatomie, sowohl für die humane als auch für die veterinäre. Wir haben eine Reihe von solchen Untersuchungen ausgeführt, worüber ich hier berichte[1]). Dabei gingen wir so vor, daß wir das Sektionsmaterial mit sterilen Instrumenten so fein wie möglich zerkleinerten. Dann füllten wir dasselbe in Schüttelröhrchen und gaben 2 ccm Säure zu. Nun zerquetschten wir das Gewebe mit einem Glasstab 5 Minuten lang, bis ein feiner Brei entstand, gaben 8 ccm Säure zu und verfuhren weiter wie bei Eiterproben. Verwendet wurde 10proz. H_2SO_4 mit einer Einwirkungsdauer von 20 Minuten.

Was zunächst die humane Pathologie anbelangt, so haben wir auf diese Weise 23mal Material untersucht und in allen Fällen ein positives Resultat erzielt. Es handelte sich um 3 Granulationen, 13 Lungenteile, 2 Drüsen, 2 Nieren, 2 Ureteren, 1 weiche Gehirnhaut bei Meningitistuberkulose. Die Kulturen erscheinen so rasch wie die aus Auswurf und Eier gezüchteten Stämme. Aus meinem Material will ich nur ein paar Untersuchungen herausgreifen, um daran die Wichtigkeit und Wirksamkeit der Methode zu zeigen. Daß sich aus tuberkulösem Lungengewebe sowie aus verkästen Drüsen die Tuberkelbazillen mit Leichtigkeit züchten lassen würden, war mir von vornherein gewiß; denn der Lungenbrei in H_2SO_4 und erst recht der Inhalt verkäster Drüsen stellt nichts anderes dar als tuberkulösen Eiter, nur daß die Zahl der Tuberkelbazillen bei Lungengewebe bedeutend größer ist. Daher trat auch hier meist das üppigste Wachstum auf. Nicht so sicher war mir die Eignung von Organen mit fester Konsistenz, die sich in H_2SO_4 schwerer suspendieren lassen: Aus einer tuberkulösen Niere mit frischen,

---

1) Für die Ueberlassung des Materials sage ich dem Prosektor der Krankenanstalten, Herrn Prof. Dr. Wilke, sowie Herrn Dr. Bauer vom Städt. Schlachthof auch hier meinen verbindlichsten Dank.

nicht verkästen Herden, die nach feiner Zerteilung mit Schere und Pinzette in H_2SO_4 zerquetscht wurde, aber wegen ihrer festen Beschaffenheit nur ein geringes Sediment ergab, wurden jedoch reichlich Tuberkelbazillen gezüchtet. Der dazugehörige Ureter wurde ebenso behandelt: auch hier wuchsen Tuberkelbazillenkolonien. Bei einem anderen Ureter bin ich so vorgegangen, daß ich mit einem scharfen Löffel die veränderte Schleimhaut abkratzte. Die Ausbeute an Kolonien war dabei eine etwas größere. Der Mitteilung besonders wert ist sodann die Kultur aus einer verkreideten Mensenterialdrüse. Hier wurden zuerst die Kreidepartikel mit einem Messer herausgebohrt, dann im Mörser zerstampft und unter Zugabe von 12proz. H_2SO_4 zu einem Kreideschlamm verrieben. Nach 17 Tagen wuchsen Tuberkelbazillenkolonien. Die ganze Tragweite der Methode für die menschliche Pathologie geht aber aus dem letzten Fall hervor: Die Lungensektion eines jungen Mannes ergab Bronchoektasien neben eitrigen und pneumonischen Prozessen. Intra vitam wurde die Diagnose auf Verdacht der Lungentuberkulose gestellt. Der Patient kam schon 2 Tage nach der Aufnahme zum Exitus; Tuberkelbazillen konnten im Auswurf nicht nachgewiesen werden. Die histologische Untersuchung mehrerer Teile der Lunge ergab keinen Anhalt für Tuberkulose. Aus 3 Gewebsteilen der Lunge wurden Tuberkelbazillen gezüchtet. Gerade dieser Fall zeigt den Wert der Methode für die Pathologie. Durch das Kulturverfahren kann nunmehr mancher Fall in einfacher Weise sichergestellt werden und manche bisher noch strittige Frage dürfte vielleicht in Zukunft hierdurch eine Lösung finden, auch was die Natur des Erregers selbst betrifft.

Aehnlich liegen die Verhältnisse für die Veterinärpathologie. Auch hier gelingt der Nachweis der Tuberkelbazillen leicht durch die Kultur in unserer Weise. Im ganzen wurden 20mal aus tuberkulösem Material vom Städt. Schlachthof, sowohl vom Rind als auch vom Schwein Tuberkelbazillen gezüchtet. Dabei handelte es sich je 1mal um Rinder- und Schweineniere, 13mal um Rinderdrüsen, 4mal um Schweinedrüsen, 1mal um einen tuberkulösen Herd im Wirbelkörper eines Schweines. Bei den untersuchten Geweben waren alle Erscheinungsformen des tuberkulösen Prozesses vertreten: die eitrige, käsige, knotige Form, sanguinolente Drüsen mit opaken Herdchen, ferner kreidig-käsiges Material, das bei der Entnahme knirschte. Bei diesen Züchtungen ist es auffallend, wie außerordentlich langsam die Kulturen des Typus bovinus heranwachsen. Wie bereits gesagt, beträgt die Durchschnittswachstumsdauer des Typus humanus beim Auswurf 10,5 Tage. Das geringste Zeitmaß bei Typus bovinus war dagegen 28 Tage, die Durchschnittszeit 43 Tage, die längste Zeit 64 Tage. Hierin besteht schon rein äußerlich ein ganz durchgreifender Unterschied zwischen dem Menschen- und Tierstamm auf Einährboden. In einem Falle habe ich einen bovinen Stamm auf Eiröhrchen überimpft, dabei wurde dasselbe verlangsamte Wachstum beobachtet. In allen Fällen wuchsen nur einzelne Kolonien, manchmal nur eine einzige. Inwieweit die Kulturmethode praktischen Wert für die Veterinärmedizin gewinnen kann, entzieht sich meiner Beurteilung; sicher wird dadurch auch hier manche wissenschaftliche Frage zur Entscheidung geführt werden können.

Sowohl für die Human- als auch für die Veterinärmedizin wäre es von größter Wichtigkeit, wenn durch das Kulturverfahren sich auch

die Tuberkelbazillen in der Milch nachweisen ließen. Ich habe bisher im ganzen 16 Milchproben untersucht. Der Nachweis ist bis jetzt nicht gelungen. Es handelte sich dabei um Milch für die Krankenanstalten und für den Haushalt, wobei der Nachweis allerdings nicht erwünscht gewesen wäre. Es wurden jedesmal 200 ccm Milch auszentrifugiert.

Die Schwierigkeiten bestehen bei diesen Untersuchungen vorläufig in der Abtötung der Milchbakterien mit H_2SO_4. Es verunreinigten im ganzen 6 Proben total. Für die gesamten Untersuchungen wurden 91 Eiröhrchen verbraucht. Davon verunreinigten 65. Die übriggebliebenen 26 Röhrchen blieben steril. Es wäre zunächst einmal wichtig, Milch von sicher tuberkulösen Tieren zur Untersuchung zu verwenden. Solches Material stand mir hier leider nicht zur Verfügung.

Man findet nicht so selten in den Arbeiten, die sich mit der Kultur des Tuberkelbazillus befassen, die Ansicht vertreten, daß sich der Einährboden zur primären Kultur nicht eignet, sondern mehr zur Fortzüchtung. Besonders von Isabolinsky und Gitowitsch (12), die sich mit den Einährböden nach Bedreska, Petroff und Zechnowizer beschäftigen, wird dies hervorgehoben. Die beiden Autoren empfehlen einen neuen Nährboden aus Stierhoden, besonders wegen der großen Aehnlichkeit in bezug auf die zusammensetzenden Substanzen mit dem Ei. Bei meinen Züchtungen hat sich der Einährboden trotz aller gegenteiligen Behauptungen für die primäre Kultur glänzend bewährt, nachdem die Prinzipien, nach denen er für die Tuberbazillenkultur hergestellt werden muß, erst einmal erkannt waren. Er übertrifft an Schnelligkeit der Ergebnisse namentlich die Glyzerinkartoffel. Ich möchte hierfür nur einen Versuch zur Illustration anführen. Bei der Ueberimpfung aus einer Aufschwemmung von Tuberkelbazillen wuchsen die ersten feinen Kolonien auf Einährboden nach unserer Herstellungsart nach 5 Tagen und entwickelten sich rasch zu einem üppigen Kulturrasen, während die ersten, mit der Lupe sichtbaren Kolonien auf Glyzerinkartoffel erst nach 14 Tagen erschienen. Es dauerte wochenlang, bis die Kultur das üppige Wachstum zeigte, welches auf Einährboden bereits nach 21 Tagen vorhanden war. Dies verlangsamte Wachstum des Tuberkelbazillus auf Glyzerinkartoffel gegenüber dem Einährboden ist an sich nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, welche kargen Nährstoffe ihm auf der Kartoffel geboten werden im Gegensatz zum Ei. Was die Herstellung der Eiröhrchen anbetrifft, so ist sie ungemein einfach. Wer Serumröhrchen für Diphtheriebazillen anfertigen kann, für den bieten auch jene keine Schwierigkeiten. Da die Eiröhrchen bei 88° zum Erstarren gebracht werden, so sind sie steril und bedürfen keiner mehrmaligen Sterilisation wie die Glyzerinkartoffel. Nicht unerwähnt will ich lassen, daß neuerdings Weise und Fernbach (13) mit Eigelbwasser bei tuberkulösen Lumbalflüssigkeiten und Eiter gute Resultate hatten. Die Methode ist schon dadurch umständlich, daß zur Beurteilung der gewachsenen Kolonien diese mit der Pipette entnommen werden müssen. Da Begleitbakterien vorläufig noch nicht unterdrückt werden können, so eignet sich das Verfahren nicht für Medizinaluntersuchungsämter, sondern nur für klinische Speziallaboratorien, die ihr Material selbst entnehmen und gleich verarbeiten.

Nachdem wir nunmehr so weit sind, daß wir auch aus verunreinigtem Material die Tuberkelbazillen mit größter Sicherheit herauszüchten können, schließt sich ganz von selbst die Beantwortung einer Reihe

von Fragen an, so die nach der Verschiedenheit der Tuberkelbazillenstämme, der Autovakzine usw. Löwenstein (14) weist in seinen Arbeiten immer wieder auf die große Mannigfaltigkeit der Stämme hin, so namentlich der aus der Niere und aus Knochenherden gezüchteten. Wir können diese Beobachtungen bestätigen. Solche Stämme unterscheiden sich schon rein äußerlich manchmal ungemein durch die Form der Kolonien und die Farbe, so daß auch der Nichtfachmann schon beim bloßen Anblick darauf aufmerksam wird. Weniger Differenzen findet man unter den Lungenstämmen. Da liegt es nahe, an die Herstellung von Autovakzinen heranzugehen und hiermit Behandlungsversuche zu machen, besonders bei tuberkulösen Knochen-, Gelenk- und Nierenerkrankungen. Es werden sodann die Fragen der verschiedenen Arten der Tuberkelbazillenstämme, die Differenzierung der Warmblüterstämme von Mensch und Tier, der Vogeltuberkulose, der Kaltblüterstämme und der anderen säurefesten Arten, die in der Natur und auf dem menschlichen Körper vorkommen, mit viel größerer Sicherheit überprüft werden können. Besonders auch das Vorkommen von bovinen Stämmen beim Menschen, namentlich beim Kinde, wird sich nunmehr leichter feststellen lassen.

Die Methodik der Tuberkelbazillenzüchtung hat sich so entwickelt, daß sie in Zukunft nicht mehr die Domäne von Speziallaboratorien sein wird. Jedes bakteriologische Laboratorium kann jetzt mit den vorhandenen Mitteln diese Untersuchung ausführen. Die bakteriologischen Methoden, die sich in die Praxis des Laboratoriums einführen lassen, müssen zwei Eigenschaften haben: sie müssen einfach in der Ausführung sein und einen hohen Grad von Sicherheit ihres Erfolges gewährleisten. Beide Erfordernisse besitzt die hier gezeigte kulturelle Methode zum Nachweis des Tuberkelbazillus, die eine Weiterentwicklung der Ideen Löwensteins und der Arbeiten Sumiyoshis darstellt. Was die Einfachheit anbetrifft, so gibt es wohl für den Bakteriologen kaum etwas Einfacheres, als das Sediment eines mit Schwefelsäure vorbehandelten Eiters ungewaschen auf schräg erstarrtes Ei von bestimmter Herstellung zu bringen. Die Sicherheit des Nachweises des Tuberkelbazillus mit der Methode ist nach meiner Erfahrung auch aus verunreinigtem Material mindestens ebenso groß wie die anderer Bakterien. Sie übertrifft darin sogar jetzt die Kulturmethode mancher Erreger bei weitem, z. B. die des Typhusbazillus. Wenn ich einen Vergleich heranziehen darf, so kommt die Zuverlässigkeit der Methode am ehesten an die heran, mit der wir den Diphtheriebazillus nachweisen bei sofortiger Verarbeitung des Materials. Bei tuberkulösem Eiter und eitrigen Urinsedimenten habe ich sogar nunmehr das Gefühl der allergrößten Gewißheit der kulturellen Erfassung des Tuberkelbazillus, auch wenn er mikroskopisch nicht nachgewiesen werden kann. Ja ich möchte sagen, wenn hier in der jetzigen Methode die Kultur ein negatives Resultat ergibt, darf die Tuberkulose mit allergrößter Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, was bei einer bakteriologischen Methode recht viel bedeutet. Ich bin mir wohlbewußt, was das besagt: Aber die über ein Jahr forgesetzte Arbeit auf dem Gebiet der Züchtung des Tuberkelbazillus mit der neuen Methode an einem großen und teilweise recht schwierigen Material erlaubt mir diese Bestimmtheit des Ausdrucks. Ich stehe daher nicht an, zu sagen, daß das Problem der Tuberkelbazillenzüchtung nunmehr auch für die Praxis des Laboratoriums gelöst ist. Der kulturelle Nachweis des

Tuberkelbazillus aus menschlichen Entzündungsprodukten, mag der Erreger auch mit anderen Bakterien vergesellschaftet sein, gehört nunmehr zu einer der einfachsten und sichersten Methoden in der Bakteriologie. Damit greife ich zum Schluß das bereits eingangs Gesagte wieder auf, daß jetzt ein neuer Abschnitt begonnen hat in der Diagnose der Tuberkulose durch die Kultur und in der Klärung von Fragen nach der Natur des Erregers selbst sowohl in der Human- wie in der Veterinärmedizin.

Literatur.

1) Koch, Robert, Berl. klin. Wochenschr. 1882. Nr. 15. — 2) Sumiyoshi, Ztschr. f. Tuberkulose. Bd. 39, 40. — 3) Pesch u. Simchowitz, Münch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 38. — 4) Schattner, Wien. klin. Wochenschr. 1925. Nr. 38. — 5) Kahlfeld u. Wahlich, Nährbodentechnik. (Wien, Urban u. Schwarzenberg.) — 6) Proskauer u. Beck, Ztschr. f. Hyg. Bd. 18. — 7) Ishimosi, Ebenda. Bd. 102. — 8) Müller, R., Münch. med. Wochenschr. 1909. S. 886. — 9) Sorányi u. Putnoky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. — 10) Hohn, Berl. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 18. — 11) Koch, Münch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 20. — 12) Isabolinsky u. Gitowitsch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 94. — 13) Weise u. Fernbach, Klin. Wochenschr. 1925. Nr. 47. — 14) Löwenstein, Wien. klin. Wochenschr. 1925. Nr. 29.

Beiträge zur Aetiologie der Influenza.

[Aus dem Hygienischen Institut der Elisabeth-Universität in Pécs (Ungarn) (Direktor: Prof. Dr. B. v. Fenyvessy).]

Von **B. v. Fenyvessy** und **H. Kopp.**

Die Untersuchungen, über die wir im folgenden berichten wollen, sind während der recht ausgebreiteten, jedoch im allgemeinen sehr leichten Influenzaepidemie begonnen worden, welche in Pécs vom Beginn d. J. 1925 an mit kurzen Unterbrechungen bis etwa Anfang April herrschte. Wie es aus dem Nachstehenden ersichtlich ist, sind wir bei unserer Arbeit nicht von neuen Gesichtspunkten, sondern lediglich von dem Wunsche geleitet worden, zu dieser wichtigen und viel umstrittenen Frage auf Grund eigener Erfahrungen Stellung nehmen zu können.

Unsere Beobachtungen lassen sich in 3 Gruppen einteilen: 1) Bakteriologische Untersuchungen über das Vorkommen der Pfeifferschen Influenzabazillen (IB.) a) bei Influenzakranken, b) bei gesunden während der Epidemie, c) bei gesunden zu epidemiefreier Zeit. 2) Künstliche Infektionsversuche an Menschen mit Reinkulturen des IB. 3) Versuche über die Tierpathogenität und über das serologische Verhalten verschiedener IB-Stämme.

Bei Festsetzung unseres Untersuchungsplanes sind wir von der Erwägung ausgegangen, daß Angaben über die Häufigkeit von IB.-Be-

---

Wir glauben, in dieser kurzen Mitteilung auf Literaturangaben verzichten zu dürfen. Wir verweisen auf die vorzüglichen Zusammenfassungen von Hübschmann (Weichardts Ergebnisse der Hygiene etc. Bd. 5), Lubinski (ebendas. Bd. 7), Levinthal, Kuszinski u. Wolf, Aetiologie und Epidemiologie der Grippe. München u. Wiesbaden (Bergmann) 1921.

funden nur dann von Wert sein können, wenn zum Nachweis derselben möglichst günstige Bedingungen gewählt werden. Diese sind aber besonders durch R. Pfeiffer und seine Schüler wiederholt präzisiert worden. Als solche sind zu nennen: Wahl frischer, unkomplizierter Krankheitsfälle; nach richtiger Probeentnahme sofortiges Anlegen der Kulturen; Benützung optimaler Nährböden. Die Erfüllung der ersten beiden Bedingungen machte uns aus naheliegenden Gründen große Schwierigkeiten; dies führte dazu, daß wir uns mit einer geringeren Anzahl von Beobachtungen begnügen mußten.

Wir haben im ganzen 41 Influenzakranke untersucht. Die klinischen Diagnosen wurden zumeist an den Kliniken unserer Universität, zum Teil von Privatärzten gestellt. In 36 Fällen handelte es sich um leichte oder mittelschwere, jedoch stets frische katarrhalische Erkrankungen, in den übrigen 5 um besondere, zumeist schwere Krankheitsformen. Diese letzteren wollen wir erst weiter unten besprechen.

Das Untersuchungsmaterial wurde in der üblichen Weise dem Nasen-Rachenraum entnommen und an Ort und Stelle auf Levinthal- und Menschenblutagarplatten ausgestrichen. Bei hustenden Patienten wurden auch Hustenplatten angelegt. Die Platten sind möglichst rasch in den Thermostaten gebracht und nach 24 Std. durchgeprüft worden. Die verdächtigen Kolonien wurden auf Levinthal-Agar, sowie auch auf gewöhnliche Agarröhrchen abgeimpft. Bei der Identifizierung der Kulturen dienten uns als Kriterien: das charakteristische Aussehen der Kolonien auf den genannten spezifischen Nährböden, das Ausbleiben des Wachstums auf gewöhnlichem Agar, sowie das morphologische und tinktorielle Verhalten der Bakterien.

Gleich hier möchten wir bemerken, daß wir durch die große Freundlichkeit des Herrn Geheimrat Prof. R. Pfeiffer, wofür wir ihm an dieser Stelle bestens danken wollen, in der Lage waren, unsere Kulturen mit 5 aus dem Breslauer Hygienischen Institut erhaltenen IB.-Stämmen zu vergleichen.

Was nun die Resultate der bakteriologischen Untersuchungen an den 36 katarrhalischen Fällen betrifft, so konnten wir die Pfeifferschen Influenzabazillen 31mal leicht, meistens in großer Anzahl nachweisen. Dies entspricht einem positiven Befund von 86 Proz. Zieht man noch in Betracht, daß alle diese Fälle nur je einmal untersucht worden sind, so kann wohl aus dem obigen Ergebnis auf das praktisch konstante Vorhandensein der IB. bei frischen Influenzafällen geschlossen werden.

Ueber die vorhin erwähnten 5 besonderen Krankheitsfälle wollen wir kurz folgendes mitteilen:

In dem einen Fall handelt es sich um ein ca. 8 Monate altes Kind, welches mit bronchopneumonischen und meningealen Erscheinungen auf unsere Kinderklinik aufgenommen wurde und nach wenigen Tagen starb. Die kurz nach der Aufnahme vorgenommene Lumbalpunktion lieferte eine eitrige Flüssigkeit mit ungeheuren Mengen von Influenzabazillen in Reinkultur; dieselben konnten bei der Obduktion aus einem bronchopneumonischem Herde gezüchtet werden, nur diesmal in Begleitung von wenigen grampositiven Kokken. — 2 weitere Beobachtungen betreffen 2 erwachsene Patienten der medizinischen Klinik; sie wurden mit anhaltendem, hohem Fieber und leichten katarrhalischen Symptomen aufgenommen. Es wurde zunächst Abdominaltyphus vermutet, doch wurde diese Annahme durch den negativen Ausfall wiederholter bak-

teriologischer und serologischer Untersuchungen sowie durch den weiteren Verlauf der Krankheit in beiden Fällen widerlegt. Beide Patienten entfieberten nämlich nach 3 bzw. 4 Tagen und konnten bald nachher entlassen werden. Die bakteriologische Untersuchung des Nasenrachensekrets sowie des Sputums auf IB. fiel am Tage der Aufnahme in beiden Fällen reichlich positiv aus. Die in der Rekonvaleszenz entnommenen beiden Sera agglutinierten Influenzabazillen bis 1:320.

Der hierzu benutzte Stamm wurde von uns aus einem früheren Fall gezüchtet. Er wird in unseren weiteren Ausführungen noch öfters erwähnt. Wir wollen ihn Stamm IBL. bezeichnen. Endlich die letzten beiden Fälle (gleichfalls Patienten der med. Klinik) zeigten anfangs zerebrale (encephalitisverdächtige) Symptome mit Temperaturen um 38 ° C. Der eine erholte sich nach wenigen Tagen, bei dem anderen entwickelte sich eine katarrhalische Pneumonie, die günstig verlief. Im Rachenabstrich und Sputum fanden wir in beiden Fällen (nebst grampositiven und -negativen Kokken) reichlich IB. Die Sera agglutinierten Stamm IBL bis 1:160 bzw. 1:320. Die vier letzten Fälle zeigen auch, daß der IB.-Befund unter Umständen differential-diagnostisch verwertet werden kann.

Influenzabazillenbefunde bei Gesunden zur Zeit der Epidemie.

Wir wählten zum Zweck dieser Untersuchungen Studenten sowie uns befreundete Personen, die zur Zeit der Probeentnahme völlig gesund waren und mit Bestimmtheit behauptet haben, auch vorher keine Influenza, Schnupfen oder dergleichen gehabt zu haben. So untersuchten wir 41 Personen und fanden 8mal, d. h. in 20 Proz. der Fälle. Influenzabazillen im Rachenabstrich. Dieses Resultat stimmt sehr gut mit den Beobachtungen von Scheller sowie von Lubinski über die Häufigkeit der IB.-Träger zur Zeit einer Epidemie überein.

Beobachtungen über das Vorkommen von Influenzbazillen bei Gesunden in epidemiefreier Zeit.

Schon die soeben erwähnten beiden Autoren zeigten, wie sehr die Zahl der IB.-Träger nach Abklingen der Epidemie abnimmt. Dasselbe konnten wir auch beobachten, als wir in den Monaten Juli und August 1925, in völlig influenzafreier Zeit, 61 Personen von verschiedenstem Beruf und Alter in der wiederholt angegebenen Weise auf IB. untersucht haben. Mit einer einzigen (d. h. 1,6 Proz.) Ausnahme fielen alle Untersuchungen negativ aus.

(Nebenbei sei noch erwähnt, daß wir zu derselben Zeit bei 43 Patienten der Tuberkuloseabteilung unserer med. Klinik 35 Proz. positive Influenzabefunde erzielt haben.)

Künstliche Infektionsversuche an Menschen mit Reinkulturen des Pfeifferschen Influenzabazillus.

Trotz des überwiegend milden Charakters der damaligen I.-Epidemie, haben wir uns schwer entschlossen, Menschenversuche anzustellen. Erst nachdem der eine von uns (Frl. H. K.) einen gelungenen Selbstversuch ohne wesentlichen Schaden überstanden hat, setzten wir die Versuche an weiteren freiwilligen Versuchspersonen fort. Frl.

H. K. infizierte sich selbst mit dem obenerwähnten Stamm IBL. am 19. 3. 1925. Der betreffende Stamm wurde am 5. 3. aus einem Patienten herausgezüchtet und seither durch tägliche Ueberimpfungen auf Levinthal-Agar erhalten. Die Infektion geschah durch Einblasen der von einem 24stünd. L.-Agarröhrchen abgeschwemmten Bazillenemulsion in den Mund mit Hilfe eines Handsprayapparates. Es sei bemerkt, daß Frl. H. K. zur Zeit des Experimentes völlig gesund war, sich seit etwa 14 Tagen mit Influenzakranken (etwa zwecks Probeentnahmen) nicht beschäftigt hat und auch sonst keine nachweisbare Gelegenheit hatte, sich durch Kontakt zu infizieren. Rund 24 Std. nach der künstlichen Infektion stellten sich die ersten Krankheitserscheinungen in Form von Mattigkeit, Gliederschmerzen und leichte Temperaturerhöhung (37,6°) ein. Am darauffolgenden Tag war das Bild der Grippe voll ausgebildet (Schnupfen, Bronchitis, Temperatur um 38° C). Der von der medizinischen Klinik zugezogene Oberarzt konstatierte einen typischen Influenzaanfall. Die katarrhlichen Erscheinungen klangen in 4 Tagen allmählich ab, doch bestand die Mattigkeit noch etwa weitere 10 Tage lang. Im Rachenabstrich und im Sputum der Patientin konnten am 3. und 6. Tage der Erkrankung Influenzabazillen reichlich nachgewiesen werden.

Die 4 übrigen Versuchspersonen waren in der Augenklinik untergebracht, wo damals keine Influenzafälle vorkamen. Von allen vier Personen wurden vor dem Versuch Abstriche von der Konjunktiva, aus der Nase und von der Rachenwand genommen und zweimal auf IB. untersucht, stets mit negativem Resultat. Die künstliche Infektion erfolgte in diesen Fällen durch Einbringen von je einer Oese einer 24stünd. Kultur des vorhin erwähnten IBL.-Stammes in den Bindehautsack. Zwei Personen blieben — abgesehen von einer vorübergehenden leichten Konjunktivitis — dauernd gesund, während die beiden anderen 48 Std. später unter den typischen Erscheinungen einer leichten Grippe erkrankten. Sie erholten sich nach 3—4 Tagen. Am 3. Tage nach der Infektion fanden wir im Nasenrachenraum viele Influenzabazillen.

Wir sahen also 3 Versuchspersonen nach künstlicher Infektion mit einer Reinkultur von IB. prompt an typischer Influenza erkranken. Der etwaige Einwand, daß es sich in diesen Fällen um natürliche Infektionen gehandelt hat, die sich durch Zufall jedesmal gerade in dem Zeitpunkte einstellten, in welchem die betreffenden Versuchspersonen künstlich infiziert wurden, hat wenig Wahrscheinlichkeit für sich, um so weniger, als in unseren Versuchen — wie aus der obigen Beschreibung ersichtlich ist — die Gefahr der Kontaktinfektion nach Möglichkeit beseitigt war. Und so glauben wir aus diesen Versuchen den Schluß ziehen zu dürfen, daß es in der Tat möglich ist, durch die Reinkultur eines IB.-Stammes am Menschen die Influenzakrankheit hervorzurufen. Damit ist aber ein wichtiger Beweis für die Erregernatur des Pfeifferschen Influenzabazillus erbracht.

Versuche über die Tierpathogenität und über das serologische Verhalten einiger Influenzabazillenstämme.

Die nachstehenden Versuche sind hauptsächlich zu dem Zwecke unternommen worden, um unseren Stamm IBL., mit dem es uns gelungen war, Menschen künstlich zu infizieren, eingehender zu studieren, als dies für die einfache bakteriologische Identifizierung nötig war. Insbesondere

schien es uns wichtig, diesen Stamm nach gewissen Gesichtspunkten mit einigen anderen Stämmen zu vergleichen. Hätte sich z. B. herausgestellt, daß unser Stamm IBL. besondere, von den übrigen abweichende Eigenschaften besitzt, so hätte der aus dem Menschenversuch gezogene wichtige Schluß wesentlich eingeschränkt werden müssen, während derselbe im Falle weitgehender Uebereinstimmungen — wie solche tatsächlich gefunden wurden — an Bedeutung gewinnen mußte. Zu diesen Versuchen wurden außer dem Stamm IBL. einige andere von uns selbst gezüchtete sowie die 5 von Herrn Geheimrat Pfeiffer erhaltenen Stämme (namentlich BP. IV, Influenza III, Geh. Rat Pfeiffer, Influenza 350 und Infl. 1253, die wir im folgenden der Kürze halber Br. I—V bezeichnen wollen) benützt.

Ueber die Tierpathogenität unserer Stämme.

Die meisten Versuche sind an weißen Ratten ausgeführt worden, die sonst zu Influenzastudien wenig benutzt werden. Sie wurden ursprünglich lediglich aus Sparsamkeitsgründen gewählt, haben sich aber in der Folge sehr gut bewährt. Von den wenigen Meerschweinchenversuchen möchten wir nur folgendes erwähnen: nach intraperitonealer Injektion von großen Dosen tötete Stamm IBL diese Tiere, entsprechend den klassischen Beschreibungen, unter dem Bilde einer akuten Intoxikation. Mit je einer Oese dieses Stammes subdural geimpft, lebten Meerschweinchen 3—4 Wochen lang, magerten stark ab und gingen endlich im marantischen Zustande ein. Während der ganzen Zeit konnten von der Infektionsstelle die Influenzabazillen in Reinkultur wiedergewonnen werden. Wir haben auf diese Weise 5 Passagestämme erhalten, auf die wir noch zurückkommen.

Weiße Ratten erwiesen sich gegen die intraperitoneale Infektion mit Stamm IBL. als recht empfindlich; gegen die sukutane und intravenöse viel weniger. Eine 24stünd. Schrägagarkultur (Levinthal) tötet 170—200 g schwere Ratten in 4—9 Std. Als kleinste tödliche Dosis galt für uns jene, welche den Tod innerhalb 24 Std. herbeiführte. Für Stamm IBL betrug sie, monatelang unverändert, etwa $^1/_8$ Agarkultur. Bei den schwersten, innerhalb 4—5 Std. tödlichen Infektionen werden die Tiere bald matt, kurz vor dem Tode treten Atembeschwerden, endlich Krämpfe auf. Es handelt sich offenbar um eine Intoxikation, doch zeigt die bakteriologische Untersuchung, daß die Bakterien den ganzen Organismus überschwemmt haben. Im Peritonealsexudat findet man in solchen Fällen ungeheure Mengen von gut erhaltenen I-Bazillen Tritt der Tod erst nach 24 Std. ein, so nimmt die Zahl der Bazillen ab, man findet agglutinierte Gruppen und Involutionsformen, auch reichlich Phagozytose. Auch in solchen verzögerten Fällen findet man, allerdings seltener, Influenzabazillen im Blute. Von den pathologisch-anatomischen Veränderungen möchten wir jene hervorheben, die wir in den Lungen der Ratten, die der Infektion nicht allzu rasch, etwa nach 24 Std. erlegen sind, mit großer Konstanz gefunden haben. Neben stark aufgeblähten Lungenpartien sieht man eingesunkene Teile mit kleineren und größeren Blutungen. Ueber die durch unser pathol.-anatomisches Institut ausgeführte histologische Untersuchung solcher Lungen können wir auf Grund einer vorläufigen Mitteilung des Herrn Prof. B. v. Entz folgendes berichten: Stets findet man erhebliche Veränderungen, von welchen besonders kleinere und größere Blutungen,

ausgebreitete peribronchiale und perivaskuläre zellige Infiltrate, sowie bronchopneumonische Herde hervorzuheben sind. Die Tatsache, daß bei intraperitonealer Infektion derartige Veränderungen in den Lungen vorkommen, legt den Gedanken nahe, hierin den Ausdruck einer besonderen Affinität des IB. bzw. seiner Endotoxine für das Lungengewebe zu erblicken. Wir möchten uns einstweilen solcher weitgehenden Schlüsse enthalten, doch wird man dieselbe Vorsicht auch dann gelten lassen müssen, wenn es sich um ähnliche, aber etwa durch das B. pneumosintes hervorgerufene Lungenaffektionen handelt.

Was nun die übrigen Influenzastämme betrifft, so zeigten 3 der von uns selbst gezüchteten Stämme im Rattenversuch ganz dasselbe Verhalten wie Stamm IBL. Dasselbe gilt auch für Br. III und Br. IV (d. h. für 2 Breslaustämme), während Br. I—II und V in der Dosis von 1 Agarkultur Ratten nicht töteten (größere Dosen wurden nicht erprobt). Jedenfalls zeigen diese Versuche, daß der Stamm IBL. sich in bezug auf Rattenpathogenität mit mehreren anderen IB.-Stämmen identisch verhält. Der negative Ausfall der mit 3 Breslau I.-Stämmen ausgeführten Versuche dürfte wohl auf quantitative Virulenzunterschiede (nicht auf qualitative) zurückgeführt werden.

Agglutinationsversuche. Den Versuchen, die mit Kaninchenimmunseris angestellt wurden, möchten wir kurz einige Beobachtungen über die Agglutination des Stammes IBL. durch das Serum anderer Patienten vorausschicken. Von 10 Patientenseris wurde unser Stamm durch 5 bis 1:320, durch 2 bis 1:160, durch 1 bis 1:80, durch die übrigen 2 bloß bis 1:20 beeinflußt; während die Sera 10 gesunder Menschen denselben Stamm 8mal nur bis 1:20 oder darunter, 2mal bis 1:40 agglutinierten. Somit scheint Stamm IBL. mit den Erregern mehrerer anderer Influenzafälle serologisch identisch zu sein.

Die Herstellung von verhältnismäßig hochwirksamen Influenza-Kaninchenimmunseris gelang uns ohne besondere Schwierigkeit durch mehrmalige (bis zu 17) Injektionen abgetöteter bzw. lebender IB.-Kulturen. Allerdings sank der ursprünglich hohe Titer (über 1:1000) nach einiger Zeit bedeutend herab, um dann konstant zu bleiben. So agglutinierte ein mit Hilfe unseres IBL.-Stammes gewonnenes Kaninchenimmunserum den homologen Stamm bis 1:640. Das agglutinatorische Verhalten drei anderer von uns gezüchteter Stämme (IB. 8, IB. 16, IBR.), sowie der 5 Breslau-Stämme zeigten folgende Zahlen: IB. 8 1:160, IB. 16 1:320, IBR. 1:160, Br. I 1:160, Br. II 1:40, Br. III 1:160, Br. IV 1:320, Br. V 1:320. — Ein ähnlich wechselvolles Bild zeigen dieselben Stämme in bezug auf Agglutination durch das mit unserem Stamm IB. 8 gewonnene Kaninchen-Immunserum. Dieses agglutinierte den homologen Stamm bis 1:640, die heterologen, wie folgt: IBL. 1:640, IB. 16 1:320, IBR. 1:160, Br. I 1:80, Br. II 1:160, Br. III 1:40, Br. IV 1:160, Br. V 1:160. — (Durch 3 Normal-Kaninchensera sind dieselben Stämme praktisch gar nicht, nur Stamm Br. V durch ein einziges Serum bis 1:80 beeinflußt worden.) — Man hat auf den ersten Blick den Eindruck, daß sich die untersuchten Stämme gegenüber einem bestimmten Immunserum sehr verschieden verhalten. Sieht man aber näher zu, so erkennt man, daß z. B. durch das Serum, welches mit Hilfe des Stammes IBL. gewonnen worden war, doch alle übrigen (mit Ausnahme von Br. II) weit über die Wirkungsgrenze der Normalsera, also spezifisch beeinflußt werden. Daraus darf man wohl auf die Zusammengehörigkeit all dieser Stämme schließen.

Die immerhin bestehenden Unterschiede im agglutinatorischen Verhalten der einzelnen IB.-Stämme erhalten eine interessante Beleuchtung durch den folgenden Versuch. Wir haben die oben erwähnten, durch Meerschweinchen-Hirnpassagen des Stammes IBL. erhaltenen Stämme (P. 1—5) mit dem, durch den Originalstamm erhaltenen Immunserum zusammengebracht. Die Agglutinationsprobe fiel mit den einzelnen Passagestämmen, wie folgt, aus: P. 1 unter 1:10, P. 2 1:80, P. 3 1:640, P. 4 1:640, P. 5 1:160. Man sieht, wie sehr das serologische Verhalten desselben Stammes durch Tierpassagen verändert wird. Die Unterschiede im Verhalten der einzelnen Passagestämme untereinander sind jedenfalls nicht geringer als diejenigen, welche wir im obigen Versuch an heterologen IB.-Stämmen verschiedenster Provenienz festgestellt haben. Dies zeigt auch, wie wenig berechtigt es wäre, in ihren sonstigen Eigenschaften übereinstimmende, als IB.-Bazillen geltende Stämme, auf Grund agglutinatorischer Unterschiede voneinander trennen zu wollen.

Wir möchten endlich einige Versuche über die Schutzwirkung der Kaninchenimmunsera im Rattenversuch gegenüber den homologen und einigen heterologen Stämmen mitteilen. Die mit Hilfe des IBL.-Stammes erhaltenen Sera schützen die Tiere gegen die mehrfache (bis zu 16fache) letale Dosen des homologen Stammes, wenn das Serum subkutan injiziert wird und die Injektion 4—5 Std. später intraperitoneal erfolgt. Der folgende Versuch zeigt die Schutzwirkung desselben Serums gegen heterologe Stämme. Das Immunserum ist in allen Versuchen dasselbe (Serum IBL. II); es wurde ebenso wie das zur Kontrolle dienende Normalkaninchenserum in der großen Dosis von je 1,0 ccm subkutan 4 Std. vor der intraperitonealen Infektion gegeben. Die Infektionsdosis ist überall eine ganze Levinthal-Schrägagarkultur.

Der zur Infektion benutzte Stamm	Das Serum	Resultat
IBL.	Immun	bleibt dauernd gesund
	Normal	† nach 4 Stunden
IB. 8	Immun	dauernd gesund
	Normal	† nach 5 Stunden
Br. III	Immun	dauernd gesund
	Normal	† nach 5 Stunden
Br. IV	Immun	† nach 40 Stunden
	Normal	† nach 4 Stunden

Wir sehen also, daß das Serum IBL. die Tiere nicht nur gegen den homologen, sondern auch gegen 3 heterologe Stämme geschützt hat (auch in dem tödlich verlaufenen Versuch mit Stamm Br. IV ist die Schutzwirkung unverkennbar).

Aus allen diesen Versuchen geht also die Uebereinstimmung unseres IBL.-Stammes mit Influenzastämmen anderer Herkunft hervor, und so glauben wir annehmen zu dürfen, daß das, was wir in den Menschenversuchen mit IBL. gefunden haben, nicht nur für diesen speziellen Stamm gilt, sondern eine allgemeine Geltung (für alle I.-Stämme) hat. Selbstverständlich würde man im Spezialfall mit der bekannten Labilität des IB. zu rechnen haben.

Zusammenfassung.

Wir haben zur Zeit einer kleinen Influenzaepidemie den Pfeifferschen Influenzabazillus bei frischen Erkrankungen in 86 Proz., bei Gesunden in 20 Proz. der untersuchten Fälle nachweisen können. Nach Abklingen der Epidemie ging die Zahl der gesunden Bazillenträger auf 1,6 Proz. herunter.

5 freiwillige Versuchspersonen sind mit Reinkulturen eines Influenzabazillenstammes künstlich infiziert worden. 3 von ihnen erkrankten prompt an Influenza.

Aus allen diesen Beobachtungen geht die spezifische Erregernatur des Pfeifferschen Influenzabazillus klar hervor.

Den Schwierigkeiten, die sich aus der Labilität des Pfeifferschen Bazillus ergeben, sind bei unseren serologischen Untersuchungen auch wir begegnet. Doch lassen sich diese Labilitätserscheinungen bei richtiger Bewertung in den Bau der Pfeifferschen Lehre einfügen, ohne dessen Festigkeit zu beeinträchtigen.

Die Differentialdiagnose zwischen den Erregern der hämorrhagischen Septikämien.

(Bac. pestis, Pseudotuberculosis rodentium und Pluri-septicus).

Von Dr. **L. Otten,**

Direktor des Pasteur-Institutes, Bandoeng (Niederl.-Indien).

Mit 2 Tafeln.

Seit alters her verursacht das Stellen der Pestdiagnose bei Nagetieren, insbesondere beim erstmaligen oder nur sporadischen Vorkommen, Schwierigkeiten. Dies ist bedingt durch das Vorkommen verschiedener anderer Krankheiten, die klinisch oder pathologisch-anatomisch ein mehr oder weniger pestähnliches Bild zeigen können, wobei überdies deren Erreger morphologisch, kulturell und serologisch viele Eigenschaften mit dem Pestbazillus gemein haben. Zu diesen müssen in erster Reihe die Pseudotuberkulose und die hämorrhagische Septikämie gerechnet werden, Krankheiten, die bei vielen Tieren spontan gefunden werden.

Unter den 3 genannten Erkrankungen bietet die Diagnose der Pest die geringsten Schwierigkeiten: Ihr Bild mag klinisch wie auch pathologisch-anatomisch keinesfalls unveränderlich sein; so zeigt der Pestbazillus bei Mensch und Tier zu konstante Merkmale, als daß seine Uniformität angezweifelt werden könnte.

Anders steht es mit der Pseudotuberkulose, bei der nämlich nicht das morphologische Aussehen des Bazillus, sondern die pathologisch-anatomischen Veränderungen die Grundlage bilden, so daß a priori kein einheitliches ätiologisches Agens zu erwarten ist. Man unterscheidet

daher auch nicht allein eine Anzahl Gruppen, je nachdem die Bazillen aus Nagetier, Mensch oder Schaf isoliert sind, zwischen denen recht große Unterschiede bestehen, doch selbst die Bazillen der 1. Gruppe (der Pseudotuberkulose der Nagetiere) zeigen untereinander keinesfalls dasselbe Bild, weder morphologisch noch biologisch.

Daher sind auch in der Literatur viele einander widersprechende Meinungen zu finden: so soll im Gegensatz zu den meisten Autoren nach Galli-Valerio (1903) der Bac. pseudotbc. rod. die Milch zur Gerinnung bringen und nach Vourloud (1906) in fast allen zuckerhaltigen Nährböden Säure bilden. Mac Conkey (1908) hält die Blaufärbung der Lackmusmolke für eine konstante Eigenschaft, während Byloff (1906) durch den Bac. pestis caviae, den er mit dem Bac. pseudotbc. rod. für identisch hält, keine Veränderung in der Lackmusmolke auftreten sieht. Galli-Valerio hat ferner eine kutane Infektion mit dem Bac. pseudotbc. rod. beim Meerschweinchen für möglich, während Klein (1906) dies als ausgeschlossen betrachtet. Auch bezüglich des morphologischen Bildes, insbesondere wegen des Vorkommens von Involutionsformen auf Hankins Salzagar, sind die Meinungen geteilt. Wie dem auch sei, kommt differentialdiagnostisch bei den vorliegenden Untersuchungen allein der Bac. pseudotbc. rod. Pfeiffer in Betracht, der, bei spontan vorkommenden Infektionen verschiedener Nagetiere isoliert, durch seine gramnegative und häufig bipolare Färbung, durch seine Unbeweglichkeit und durch das Fehlen der Gasbildung, Milchgerinnung und Gelatineverflüssigung viel Aehnlichkeit mit dem Pestbazillus zeigt.

Das größte Chaos herrscht wohl in der Gruppe der sog. hämorrhagischen Septikämie, was seine Erklärung in den sehr heterogenen Kennzeichen findet, die für diese Gruppe als Grundlage dienen. Einerseits basierte Hüppe (1886) seine Gruppierung auf das klinische Krankheitsbild, nämlich die Anwesenheit einer Septikämie, was aber ebensowenig als das pathologisch-anatomische Bild die Identität der verursachenden Bakterien verbürgt. Andererseits wieder nahm Lignières (1909) verschiedene morphologische und kulturelle Kennzeichen als Basis der Einteilung an und vereinigte die in dieser Hinscht übereinstimmenden Bakterien zu der sogenannten Pasteurella-Gruppe, ein übrigens wenig passender Name. Es ist wohl begreiflich, daß die Kombination dieser beiden, auf so differenten Kriterien basierenden Gruppen alles eher als zu einer passenden Systematik führen konnte, und zwar um so weniger, als die von Lignières angeführten Kennzeichen häufig negiert wurden. Momentan werden denn auch die differentesten Bakterien hierzu gezählt, wie Gasbildner, Milchgerinner und selbst Laktosevergärer.

Přibram, Plasaj und Busson (1921), um einige Untersucher der letzten Jahre zu nennen, haben auf diese Verwirrung hingewiesen und gezeigt, daß viele dieser Bakterien zur Typhus-Coli-Gruppe gehören, und zwar zu den Coli- oder Paratyphus ähnlichen gezählt werden müssen. Bei der Untersuchung mehrerer Stämme, die in der Kral-Přibramschen Sammlung als Bac. cholerae gallinarum, Bac. suisepticus etc. bezeichnet wurden, habe ich dasselbe gefunden; mit Ausnahme des Bac. pleuro-pneumoniae (Poels) gehörten alle zur Typhus-Coli-Gruppe. Diese bilden also für die Differentialdiagnose der Pest und Pseudotbc. rod. keine Schwierigkeiten. Daher kommen auch hier allein jene Bakterien in Betracht,

welche als Erreger eines septikämischen Krankheitsprozesses bei verschiedenen Tiersorten wie Huhn, Schwein, Büffel etc. isoliert wurden und durch ihre morphologischen und kulturellen Kennzeichen (langsames Wachstum, Vergären verschiedener Zuckersorten ohne Gasbildung, keine Milchgerinnung oder Gelatineverflüssigung) viel Aehnlichkeit mit dem Pestbazillus zeigen. Diese Bazillen bilden eine Gruppe[1]), die wahrscheinlich übereinstimmt mit der ersten der 3 Typen, in die Přibram und Plasaj die große Gruppe der „Bacteria multoseptica" (die also alle Bakterien der hämorrhagischen Septikämien und Pasteurellosen umfaßt) untergeteilt haben und welche sie mit dem Pestbazillus und dem Bac. pseudotbc. rod. vereinigt haben zu der Gruppe der „Bacteria haemorrhagica" oder „bipolaria". Diese Einteilung beabsichtigt keineswegs eine Identifizierung, sie hat vielmehr nur den einen Zweck, verschiedene pathogene Bakterien, die sowohl biologisch als morphologisch viel Uebereinstimmung zeigen, zusammen zu gruppieren.

Was nun die Differentialdiagnose in dieser Gruppe anbetrifft, so bieten der Pestbazillus und der Bac. pseudotbc. rod. offenbar die meisten Schwierigkeiten; daher werden auch in der Literatur diesbezüglich die meist widersprechenden differentialdiagnostischen Kennzeichen erwähnt. Bezüglich des Vorkommens von Involutionsformen auf 3proz. NaCl-Agar sieht u. a. Matzuschita (1904) diese als charakteristisch für den Pestbazillus an. Zlatogoroff (1904) fand aber in der Involution kein konstantes Merkmal eines jeden Peststammes und sah diese auch bei dem Bac. pseudotbc. rod. Rosenfelds (1901) Meinung steht zwischen beiden: auch er fand Involution bei dem Bac. pseudotbc. rod., doch war diese wohl von der des Pestbazillus zu unterscheiden.

Nach Zlatogoroff sollten ferner der Pestbazillus und der Bac. pseudotbc. rod. morphologisch und kulturell nicht oder kaum voneinander zu unterscheiden und nur der Tierversuch entscheidend sein, da der Bac. pseudotbc. rod. nicht pathogen für Ratten sein soll. MacConkey aber sieht im Wachstum in der Lackmusmolke einen deutlichen und konstanten Unterschied und findet im Gegenteil die Ratte wohl empfindlich sowohl für subkutane als auch intestinale, wenn auch nicht mit akutem Wachstum einhergehende Infektion. Auch in serologischer Hinsicht besteht keine Uebereinstimmung: Im Gegensatz zu den meisten Autoren konnte Zlatogoroff die beiden Bazillen mittels Agglutination nicht differenzieren, wohl aber durch die Präzipitationsreaktion und mit Hilfe der Kreuzungsimmunisierung. Mac Conkey aber verneint eine derartige Möglichkeit: Von 43 Meerschweinchen widerstanden nach subkutaner Vorbehandlung mit dem Bac. pseudotbc. rod. nicht weniger als 34 = 80 Proz. einer nachträglichen Infektion mit einem virulenten Peststamm gegenüber nur 20 Proz. der Kontrolltiere. Rowland (1912—1914) bekam noch deutlichere Resultate (100 Proz. überlebten) und meinte, zwischen beiden nur einen Unterschied in der Virulenz sehen zu dürfen, den er unter bestimmten

---

1) Inwieweit die zu dieser Gruppe gehörenden Bakterien miteinander identisch sind oder nur Varietäten derselben Grundtype sind, einfachheitshalber als Bac. pluriseptiens angedeutet, ist ein bis jetzt ungelöstes Problem. Wiewohl diese morphologisch und kulturell nicht voneinander zu unterscheiden sind, haben serologische und immunologische Untersuchungen sehr verschiedene Resultate geliefert, so daß der unitaristische Standpunkt keinesfalls von allen geteilt wird.

Kulturverhältnissen selbst ganz zum Verschwinden bringen könnte. Obgleich er später mit einem sogenannten „bodystrain" als Teststamm viel ungünstigere Resultate erreichte, sprechen diese Versuche doch wohl für eine enge Verwandtschaft zwischen dem Pest- und Pseudotbc.-Bazillus.

Was die Differentialdiagnose zwischen dem Pestbazillus und dem Bac. plurisepticus betrifft, so sind die Angaben darüber viel weniger zahlreich, doch ebensowenig ohne Widerspruch. Klein betrachtet unter anderem die Bildung von Indol durch den Bac. plurisepticus als unterscheidendes Merkmal[1]). Nach der Ansicht der Britisch-Indischen Kommission (1908) soll sein Wachstum in Nährmedien, die gallensaure Salze enthalten, gehemmt sein, im Gegensatz zu dem des Pestbazillus. Nach Kitt tritt durch den Bac. plurisepticus keine Säurebildung in der Lackmusmolke auf, doch kommen andere zu entgegengesetzten Resultaten, und insbesondere bezüglich der Säurebildung in den verschiedenen Zuckerarten sind die Meinungen sehr geteilt.

Meiner eigenen Erfahrung nach zeigt die Lackmusmolke von Petruschky wirklich Unterschiede: in der Regel geht beim Bac. pseudotbc. rod. eine beginnende Rotfärbung ins Blaue über, während der Pestbazillus eine schwache Rotfärbung zeigt, beim Bac. plurisepticus die Reaktion amphoter und die Molke klar bleibt. Doch auch von dieser Regel gibt es Ausnahmen, und darüber muß man sich nie wundern, wenn man sich vor Augen hält, zu welch verschiedenen Resultaten der Gebrauch der Lackmusmolke bei der Differentialdiagnose der Typhus-Coli-Gruppe geführt hat. Die Ursache davon ist hauptsächlich in der Kompliziertheit dieses Nährbodens zu suchen, dessen Zusammenstellung sehr von der Sorgfalt bei seiner Bereitung abhängig ist. In diesem Zusammenhang sei erinnert an den jahrelangen Streit über den Wert der Säurebildung als Differentialdiagnostikum zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen. Die vielen einander widersprechenden Resultate auf diesem Gebiet müssen außer dem Grade der Reinheit der gebrauchten Zuckersorten ohne Zweifel zum großen Teil auch der in ihrer Zusammenstellung so wechselnden Bouillon zugeschrieben werden; man denke nur an die Untersuchungen von Spronck mit verschieden alten Fleischsorten.

Es war also angezeigt, einen weniger komplizierten Nährboden zu gebrauchen, dessen verschiedene Bestandteile genauer zu dosieren sind, und zu untersuchen, ob bei bestimmten Mengenverhältnissen von Eiweiß und Kohlehydrat vielleicht in deutlicher Weise Unterschiede in der Säurebildung gezeigt werden könnten. Daß diese bestehen müßten, bewies nicht allein der Unterschied in der Veränderung der Lackmusmolke, sondern auch in der Barsiekow-Glukose (und Mannit): in diesen verursacht der Bac. pseudotbc. rod. in 24 Std. konstant starke Rötung und beinahe immer Gerinnung, während der Pestbazillus nach 24 Std. nur eine sehr schwache Rötung zeigt, um

1) Tatsächlich habe ich bei allen Plurisepticus-Stämmen von Java Indolbildung gefunden, nicht aber bei dem Bac. pleuropneumoniae (Poels), der zur selben Gruppe gezählt wird. Dieser unterscheidet sich allerdings auch von den anderen Stämmen durch sein Verhalten in der später zu besprechenden NaCl-Peptonglukoselösung: während die Plurisepticus-Stämme von Java in dieser Lösung eine langsam zunehmende saure Reaktion zeigen, macht der Bac. pleuropneumoniae das Milieu direkt schwach alkalisch.

erst nach mehreren Tagen Gerinnung hervorzurufen. Noch viel langsamer ändert sich dieser Nährboden nach der Impfung mit dem Bac. pluriseptious; zur Gerinnung kommt es niemals. Merkwürdigerweise wurde bisher auf diesen doch so deutlichen Reaktionsunterschied in der Literatur fast gar nicht geachtet.

Als Nährboden habe ich das gewöhnliche NaCl-Peptonwasser in verschiedenen Konzentrationen gewählt (0,5, 1 und 2 Proz. Pepton), dem Glukose in fallenden Mengen (0,5, 0,25, 0,1 und 0,05 Proz.) zugefügt wurde, mit Lackmus (6 Proz.) als Indikator. Die Reaktion ist gewöhnlich neutral oder schwach sauer, in welch letzterem Falle sie mittels NaOH neutral oder schwach alkalisch (P_H 7—7,2) gemacht wird[1]). Bei der Wahl der Media ließ ich mich leiten durch die fast klassische Arbeit von Theobald Smith (1890), der als erster die Säurebildung auf die Anwesenheit von Zucker in den Nährböden zurückgeführt hat, ferner durch die von Capaldi und Proskauer (1896), aus deren Untersuchungen hervorging, daß tatsächlich keine Säurebildung ohne Zucker stattfinden kann, daß aber dieser Prozeß in seinem Verlauf sehr stark beeinflußt wird durch die Konzentration der eiweißhaltigen Nährsubstrate, und zwar für verschiedene Bakterien keinesfalls in derselben Weise.

In der 0,5proz. Peptonlösung zeigt sich nun, daß die 3 genannten Spezies die Glukose in ihren 4 Konzentrationen in sehr verschiedener Weise verbrauchen. Bei Impfung mit dem Pestbazillus ist innerhalb 24 Std. in allen 4 Röhrchen starke Säurebildung zu sehen, wobei in den folgenden Tagen fast keine Veränderung mehr eintritt; es wird nur die Farbe dunkler rot und der Inhalt trüber. Der Bac. pseudotbc. rod. zeigt dasselbe Bild, ausgenommen in dem 4. Röhrchen, das nur 0,05 Proz. Glukose enthält; in diesem ist nach 24 Std. eine Verfärbung bis hell lila sichtbar, welche Farbe in den folgenden Tagen über dunkel lila in blau übergeht; hier findet also eine Umkehr der Reaktion statt. Der Bac. pluriseptious schließlich zeigt in allen Röhrchen eine viel langsamere Säurebildung; nach 24 Std. ist die Farbe noch unverändert oder höchstens hell lila, um erst nach mehreren Tagen deutlich rot zu werden, doch niemals in dem Grade, als bei den erstgenannten Bazillen dies wahrzunehmen ist.

Es ergab sich nun, daß diese Unterschiede konstant sind: 13 Peststämme, von allen Weltteilen stammend, 7 verschiedene in Europa isolierte Pseudotuberkulose' und 9 Plurisepticus-Stämme aus Niederländisch-Indien (avi-, sui- und bubali-septicus) sind von mir untersucht worden und waren auf diese Weise leicht zu differenzieren [2]).

Diese für das Auge sichtbaren Farbveränderungen finden außerdem Ausdruck in der Wasserstoffionen-Konzentration, die für jede der 3 Bakterienarten in den verschiedenen Glukosekonzentrationen einen konstanten Verlauf zeigt, wie die absoluten Zahlen in der Tabelle (diese sind von 6 Stämmen jeder Bakterienart bestimmt) angeben.

---

1) Um mit ungefähr derselben Menge Bazillen zu impfen, wurde die Pest- und Plurisepticus-Kultur mit 2,5 ccm, die von Pseudotuberkulose mit 10 ccm NaCl abgespült. So werden fast gleichtrübe Suspensionen erhalten, von denen je 1 Tropfen in jedes der Röhrchen mittels Pasteur-Pipette zugefügt wurde.

2) An dieser Stelle möchte ich meinen Dank aussprechen allen (Dr. Avari in Bombay, Dr. Brookes in London, Dr. Bubberman in Buitenzorg, Prof. van Loghem in Amsterdam, Prof. Přibram in Wien, Dr. Vervoort in Medan. Dr. Wu Lien Teh in Harbin), die dazu beigetragen haben, durch Zusendung eines oder mehrerer Stämme diese Untersuchungen zu ermöglichen.

und was auch aus den beigehenden Kurven deutlich hervorgeht. Die Zahlen von Bac. pestis und pseudotbc. rod. stimmen fast völlig in den 3 höchsten Zuckerkonzentrationen überein, um erst in den niedrigsten stark abzuweichen, während der Bac. plurisepticus in allen Konzentrationen einen davon abweichenden Verlauf zeigt.

Species	0,5proz. Kochsalz-Peptonwasser, mit					
	0,5 Proz. Glukose			0,25 Proz. Glukose		
	nach 1	3	7 Tagen	nach 1	3	7 Tagen
Bac. pestis	4,7—4,9	4,6—4,9	4,6—4,9	4,7—5,0	4,6—4,9	4,6—4,9
Bac. pseudotbc. rod.	4,6—4,9	4,6—4,8	4,6—4,8	4,5—4,8	4,6—4,8	4,6—4,8
Bac. plurisepticus	6,3—7,2	5,6—5,9	5,6—6,1	6,3—7,2	5,6—6,1	5,6—6,0

Species	0,5proz. Kochsalz-Peptonwasser, mit					
	0,1 Proz. Glukose			0,05 Proz. Glukose		
	nach 1	3	7 Tagen	nach 1	3	7 Tagen
Bac. pestis	4,8—5,0	4,6—5,0	4,7—4,9	5,0—5,3	5,0—5,4	5,1—5,5
Bac. pseudotbc. rod.	4,6—4,8	4,6—4,8	4,6—4,9	5,5—5,9	6,3—6,7	7,0—7,3
Bac. plurisepticus	6,3—7,2	5,6—6,2	5,8—6,1	6,5—7,2	5,8—6,2	5,8—6,1

Was die Erklärung dieses so verschiedenen Verhaltens in demselben Nährboden betrifft, so scheint es plausibel, dabei einen Zusammenhang mit dem Unterschied in der Wachstumsstärke zu suchen. Die Kultur des Bac. pseudotbc. rod. zeigt ohne Zweifel das schnellste und reichlichste Wachstum auch auf gewöhnlichem Agar, während der Bac. plurisepticus am langsamsten von allen wächst. Daß die Wachstumsstärke zweifellos von großem Einfluß ist, folgt wohl daraus, daß sowohl der Pestbazillus als auch der Plurisepticus in 1- und vor allem in 2proz. Peptonwasser, in dem sie viel besser wachsen, bei der niedrigsten Zuckerkonzentration (0,05 Proz.) ebenfalls die anfangs gebildete Säure nach und nach neutralisieren und schließlich nach 1 Woche die Anfangsreaktion wieder erreichen oder selbst überschreiten.

Ob allerdings dabei allein ein stärkeres Wachstum den Ausschlag gibt, oder noch andere Eigenschaften hierbei eine Rolle spielen, hängt wohl mit der Frage zusammen, wie die Umkehr der Reaktion erklärt werden muß.

Die Frage der Säure- und Alkalibildung ist fast so alt wie die Bakteriologie selbst; man darf sich aber darüber nicht wundern, daß das so komplizierte Problem des Stoffwechsels in bezug zur mikrobiologischen Welt noch lange nicht als gelöst betrachtet werden kann. Die ursprüngliche Meinung von Petruschky, als sollten Säure- und Alkalibildner bestehen, wurde bald durch Th. Smith widerlegt, der zeigte, daß die Säurebildung abhängig ist von der Anwesenheit von Zucker, und daß in einem zuckerfreien Nährboden sich die Reaktion sofort nach der alkalischen Seite bewegt, wenigstens unter aëroben Verhältnissen. Die Säurebildung betrachtete Smith denn auch als einen Abbauprozeß, der sowohl aërob als auch anaërob stattfinden kann, die Alkalibildung dagegen als einen Stoffwechselprozeß der Bakterien selbst;

ein Aufbauprozeß also, der sich parallel mit dem Wachstum abspielt und darum auch an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden ist.

Während die Ansicht von Smith bezüglich der Säurebildung sich vollkommen richtig gezeigt hat, kann die von ihm gezogene Parallele zwischen Wachstum und Alkalibildung nicht mehr zu Recht bestehen. Wachstum und Kraftwechsel, Ansatz und Umsatz, wie Rubner dies treffend ausdrückt, sind zwei ganz verschiedene Prozesse. Stickstoff in der Form von Eiweiß und seinen Derivaten ist das Fundament des ersten, ein synthetischer Prozeß, Kohlenstoff in der Form von Kohlehydraten das des zweiten, ein Abbauprozeß. Bei Abwesenheit von Kohlehydraten aber wird auch Eiweiß als Energiequelle unter Freiwerden von NH_3benützt und die Folge davon ist eine zunehmende Alkalität des Nährbodens.

Die Spaltung von NH_3 soll also nach Rubner und seiner Schule nicht beim Wachstum, sondern beim Kraftwechsel stattfinden; es ist also kein Lebensprozeß im engeren Sinne und kann auch als Fermentwirkung den Wachstumsprozeß überleben. Es sei noch dahingestellt, ob beim synthetischen Prozeß überhaupt kein Ammoniak gebildet wird (Kendall spricht sich darüber weniger exklusiv aus), aber jedenfalls wird hier die Alkaliblidung vor allem vom Eiweißabbau abhängig gemacht.

Demgegenüber steht die Meinung, daß auch die Alkalibildung auf die Anwesenheit von Zucker zurückgeführt werden kann, namentlich durch Umsetzung der bei der Zuckerspaltung gebildeten organischen Säuren. Maasen hat schon 1896 gezeigt, daß verschiedene organische Säuren in Form ihrer Na- oder K-Salze durch viele Bakterien unter Bildung von CO_2 angegriffen werden, die als (Bi)-Karbonat festgelegt wird. In späteren Jahren (1918) ist darauf insbesondere durch Ayers und Rupp nochmals hingewiesen worden, dies in Verbindung mit ihrer Untersuchung über alkalibildende Bakterien in der Milch, die darin die Reaktion durch Fermentation der zitronensauren Salze unter Bildung von Alkalikarbonat alkalisch machen.

Nicht allein die beim Eiweißabbau gebildeten Aminosäuren, sondern auch die bei der Kohlehydratspaltung entstandenen sind also eine Quelle von Alkalibildung. Auch die Umkehr der Reaktion durch den Bac. lactis aërogenes führen sie auf die Oxydation der aus dem Zucker gebildeten organischen Säuren, insbesondere der Ameisensäure, zurück. Die Endreaktion soll also die Resultante zweier Spaltungsprozesse sein, einerseits des Zuckers in saurer, andererseits der dabei gebildeten organischen Säuren in alkalischer Richtung; beide Prozesse, die Bildung und Zerstörung organischer Säuren, können wohl gleichzeitig einsetzen, doch überwiegt im Anfang die Zuckerspaltung, um bei nicht zu starker Konzentration durch den zweiten Prozeß überflügelt zu werden.

Auf Grund des oben Genannten mag wohl angenommen werden, daß sowohl Eiweiß als Kohlehydrate den Stoffwechsel in alkalischer Richtung leiten können und daß der Anteil beider an der Wirkung wohl sehr abhängig sein wird von der Zusammenstellung des Nährbodens, hauptsächlich von dem Grade seiner Pufferung. Jedes Bakterium spaltet doch den Zucker, bis eine bestimmte H-Ionen-Konzentration erreicht ist, die zugleich seine Tolerabilitätsgrenze gegenüber der gebildeten Säure angibt, wie dies zuerst Michaelis und Marcora (1912) für das Bacterium coli gezeigt haben. Je länger die

sinkende H-Ionenkonzentration von der letalen Grenze ferngehalten wird, sei es, daß die Menge des zu spaltenden Zuckers nicht hinreichend ist, sei es, daß der Zuckerspaltungsprozeß langsam verläuft, oder daß eine gute Pufferung dafür sorgt, je besser das kulturelle Wachstum imstande ist, der zunehmenden Säureintoxikation Widerstand zu leisten und diese schließlich selbst definitiv zu überwinden.

Zur Erklärung dieser so verschiedenen Reaktion der 3 behandelten Spezies soll also außer an dem Unterschied in der Wachstumskraft auch an einen möglichen Unterschied in dem Umsetzungsvermögen organischer Säuren gedacht werden müssen, während außerdem die Säuretoleranz mit von großem, wenn nicht entscheidendem Einfluß sein soll[1]). Ob nebenbei noch andere Faktoren im Spiele sind, wie z. B. Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber dem gebotenen Zucker, ist sehr wohl möglich. Pfeiler sagt, daß Glukose etwas hemmend auf den Bac. pluriseptieus einwirkt, ohne aber diese Behauptung näher zu begründen; der fast parallele Verlauf der PH-Kurve bei den 4 verschiedenen Zuckerkonzentrationen weist meiner Ansicht nach nicht darauf hin.

Beim Durchsehen der Literatur über die Frage der Reaktionsumkehr habe ich ferner gesehen, daß diese Methode der differentialdiagnostischen Untersuchung keinesfalls neu ist, vielmehr schon viele Bakterien durch den Verlauf der PH-Kurve voneinander differenziert werden könnten, wenn auch in Nährböden von anderer Zusammensetzung. So fanden Clark und Lubs (1915), daß Bacterium coli in einem 0,5proz. Glukosemedium eine stark saure Endreaktion (PH = 4,8) zeigte, im Gegensatz zum Bac. aërogenes, der eine anfängliche saure Reaktion PH = 5,7) bald in alkalische Richtung übergehen läßt. Ayers, Avery und Cullen, Jones u. a. meinen, hierin ein Mittel gefunden zu haben zur Differenzierung pathogener und apathogener Streptokokken, Lewine zur Unterscheidung von Dysenterie und Dysenterie ähnlichen Bazillen usw. Da, soweit mir bekannt, die Untersuchung in der Gruppe der Bacteria bipolaria bisher noch nicht in diese Richtung gelenkt ist, habe ich gemeint, daß eine Mitteilung dieser differentialdiagnostischen Kennzeichen von einigem Nutzen sein könnte.

Zusammenfassung.

1) Die verschiedenen, in der Literatur angegebenen kulturellen Kennzeichen des Bacillus pestis, pseudotuberculosis rodentium und pluriseptis sind keinesfalls übereinstimmend und genügen nicht zur sicheren Differenzierung derselben. — 2) Ein Nährboden, bestehend aus $^1/_2$proz. Peptonwasser, dem Glukose in fallenden Mengen zugefügt ist, mit Lackmus als Indikator, gibt mit jeder der drei genannten Bakterienarten eine Reihe konstanter, scharf voneinander zu scheidender Farbenreaktionen. — 3) Dieser deutlich sichtbare Farbenunterschied ist meßbar, und zwar durch Bestimmung der

1) Während der Bac. pluriseptieus, nicht oder kaum ein PH = 6 überschreitend, hierbei nicht mehr kultivierbar ist, erreicht der Bac. pseudobc. rod. einen viel niedrigeren Säuregrad (PH = 5,5), um von hier aus schließlich doch vollkommen kulturfähig hervorzukommen.

H-Ionenkonzentration, die für jedes der drei genannten Bakterien, entsprechend der Beobachtungszeit, einen typischen und konstanten Verlauf zeigt.

Literatur.

Ayers and Rupp, Journ. inf. Dis. Vol. 23. 1918. — Avery and Cullen, Journ. Exp. Med. Vol. 29. 1919. — Busson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. — Capaldi and Proskauer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23. 1896. — Clark and Lubs, Journ. of inf. Dis. Vol. 17. 1915. — Galli-Valerio, Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. — Levine, Journ. inf. Dis. Vol. 27. 1920. — Maassen, Arb. kais. Gesundh.-Amt. Bd. 12. 1896. — Mac Conkey, Journ. of Hyg. Vol. 8. 1908. — Michaelis, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 14. 1912. — Přibram and Plassaj, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85, 87. — Petruschki, Ibid. Bd. 6. 1889; Bd. 7. 1890. — Rowland, Journ. of Hyg. Vol. 12. 1912; Vol. 14. 1914. — Rubner, Arch. f. Hyg. Bd. 48. 1904; Bd. 57. 1906. — Smith, Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890; Bd. 18. 1895. — Vourloud, C., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. — Zlatogoroff, Ibid. Bd. 37. 1904.

Die Wertbestimmung des Milzbrandserums.

[Aus dem Serumlaboratorium der Gesellschaft für Seuchenbekämpfung A.-G. Frankfurt a. M.-Niederrad.]

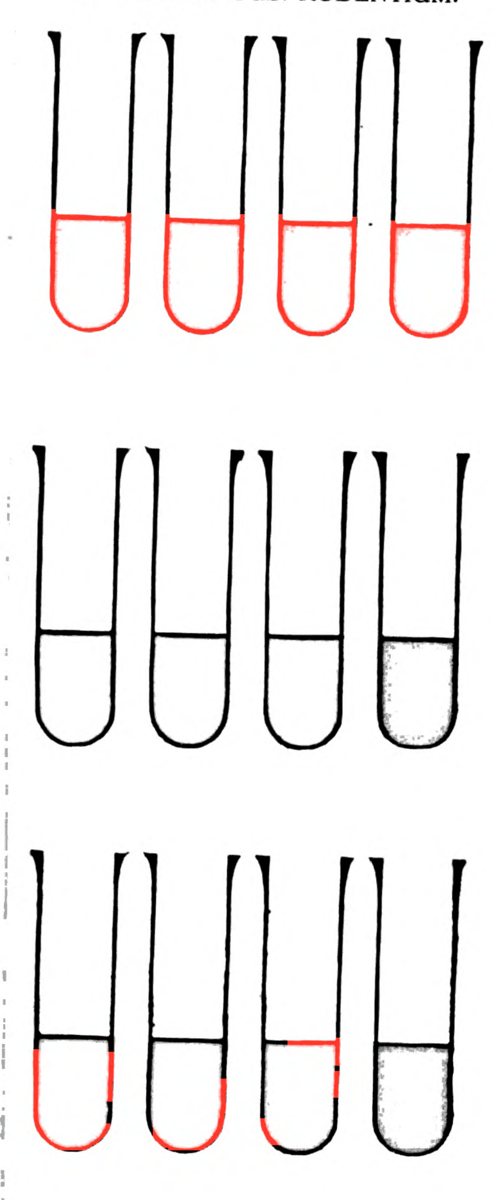
Von Dir. Dr. **Alexander Lusztig.**

Mit 1 Abbildung im Text.

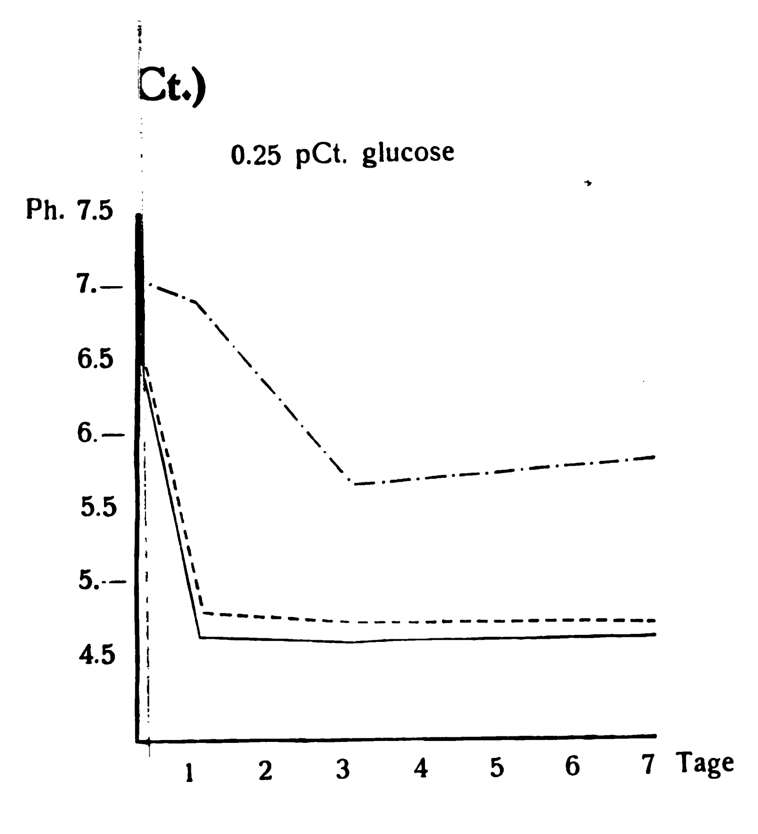
Die epochalen Entdeckungen Behrings und Ehrlichs in den Jahren 1889—97 bildeten die Grundsteine der Serologie und lieferten u. a. Methoden in die Hände des wissenschaftlichen Kontrollörs, vermittels derer die quantitative Feststellung der Schutzstoffe der antitoxischen Sera in derart genauer Weise möglich wurde, welche an Exaktheit der Kgr.- oder anderen physikalischen Meßmethoden nahesteht. Bis zu ewigen Zeiten werden die Ehrlichschen Prinzipien der Serumwertbestimmung: „Absolut konstanter Maßstab und ein für die betreffende Intoxikation gleichmäßig empfängliche Tierart als Indikator“ — die Leitmotive der Serologie sein. Durch die Uebertragung der Maßeinheit — Immunitätseinheit genannt — an das Antitoxin, durch die Herstellung der Trocken-Standardsera und Toxine gelang es baldigst, bei den Hauptrepräsentanten der antitoxischen Sera, Diphtherie und Tetanus, eine genaue Definition des Wirkungswertes durch Bestimmung des Antitoxingehaltes zu liefern. Mit Hilfe dieser Methoden wurde der praktischen Serologie die Möglichkeit geboten, einwandfreie Serumpräparate mit bekanntem antitoxischen Schutzwerte der therapeutischen Praxis zur Verfügung zu stellen.

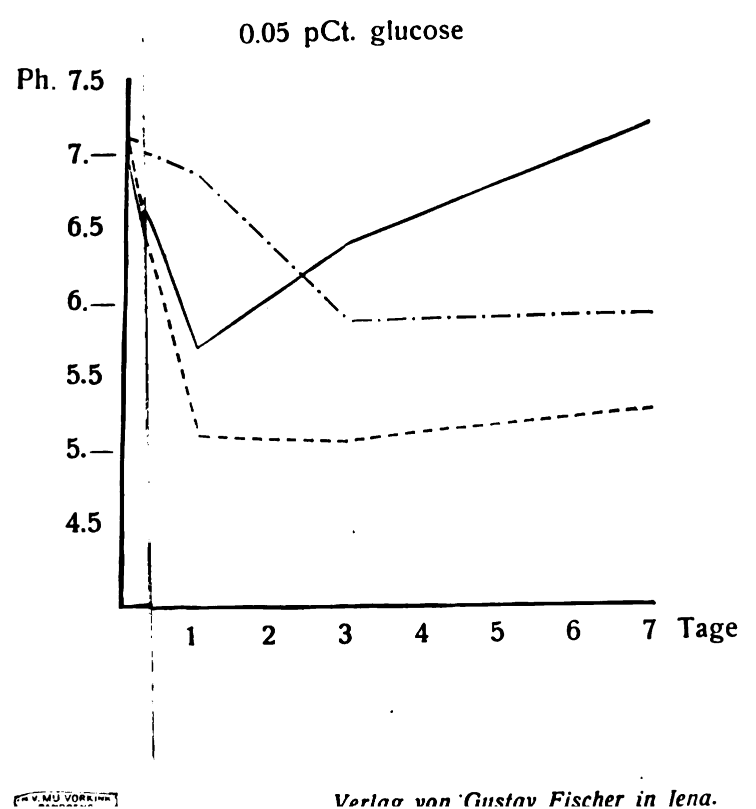
Diese grundlegenden Untersuchungen betrafen ausschließlich die antitoxischen Sera, bei welchen also sämtliche wirksamen Schutzstoffe des Immunserums in einem einzigen Immunkörper, dem Antitoxin, vereinigt sind und so die Feststellung des Antitoxingehaltes gleichzeitig auch ein treues Spiegelbild des Wertes des Serums ist. Bei der 2. Gruppe der Immunsera, den antiinfektiösen oder antibakteriellen Seren, gestaltet sich die Wertbestimmung insofern

B. PSEUDO TUB. RODENTIUM.



Ct.)


0.25 pCt. glucose
Ph. 7.5
7.—
6.5
6.—
5.5
5.—
4.5
1
2
3
4
5
6
7
Tage


0.05 pCt. glucose
Ph. 7.5
7.—
6.5
6.—
5.5
5.—
4.5
1
2
3
4
5
6
7
Tage

schwieriger und komplizierter, als hier, im Gegensatze zu der antitoxischen Gruppe, vielerlei Antikörper als Träger der spezifischen Wirksamkeit fungieren, so die Bakteriolysine, die Bakteriotropine, die Bordetschen Antikörper, die Antiagressine, die Antiendotoxine und möglicherweise noch andere unbekannte fermentartige Stoffe, deren mengenmäßige Bestimmung in praxi sich nicht durchführen läßt. Nichts desto weniger gelang es, eine genaue Bewertung der Schutzstoffe auch bei den antibafteriellen Seris in der Weise zu ermitteln, daß beim Verzicht auf die Bestimmung der einzelnen Antikörper ausschließlich die Schutzwirkung des Serums gegenüber sicher tödlichen Dosen der lebenden Erreger an geeigneten Versuchstieren zugrunde gelegt wurde. So ist eine exakte Bestimmung der Immunitätseinheiten beim Rotlauf-, Geflügelcholera- und Schweineseucheserum ermöglicht und eine für die praktischen Zwecke hinreichende Genauigkeit bei dem Antistreptokokken- und Pneumokokkenserum erzielt worden.

Eine Ausnahme in dieser Gruppe bildet das Milzbrandimmunserum, welches übrigens nach den Regeln der antiinfektiösen Sera gewonnen wird, und ebenso, wie der Milzbrandbazillus selbst, eine Sonderstellung in dieser Gruppe einnimmt. Trotz der wunderbaren prophylaktischen und therapeutischen Erfolge der Human- und Veterinärpraxis, welche das Vorhandensein der spezifischen Schutzstoffe hinreichend beweisen, konnte trotz der zahlreichen Prüfungsversuche in den letzten Dezennien, eine verläßliche quantitative Wertbemessungsmethode weder in vivo, noch in vitro ermittelt werden. — Zurzeit kommen folgende 4 Prüfungsmethoden für Milzbrandserum zur Anwendung:

1) Methode nach Detre: Detre in Budapest injiziert an 1,5 kg schwere 0,5—2 ccm. Serum iv. und in 18 Std. nebst Kontrollen virulente Kultur. Die mit Serum behandelten Tiere müssen am Leben bleiben, die Kontrolltiere am 3. Tage sterben.

2) Das argentinische Verfahren nach Mendez: Fallende Serummengen werden mit der 1000fachen tödlichen Dosis gemischt an Meerschweinchen subkutan injiziert. Wenn die mit Serum behandelten Tiere die Kontrollen 6—8 Std. überleben, so besitzt das Serum einen Immunitätsgehalt von $^1/_2$ I. E.

3) Methode nach Ascoli: 6 Meerschweinchen von 300 g erhalten je 2 ccm des zu prüfenden Serums ip. und in 24 Std. 0,25 ccm Hühnerbouillonkultur eines abgeschwächten Milzbrandstammes sk. Die Kontrollen müssen in 3—4 Tagen sterben, von den mit Serum behandelten aber 3—4 noch nach 6 Tagen am Leben bleiben.

4) Die weitverbreiteste Methode ist die Sobernheimsche: Fünf Kaninchen erhalten steigende Serummengen von 2—6 ccm iv. und in 10 Min. nebst einem Kontrolltier $^1/_{1000}$ Oese virulenter Kultur sk. Wenigstens die Hälfte der serumbehandelten Tiere muß am Leben bleiben und auch die andere später wie das Kontrolltier sterben, wobei die Ueberlebenden ganz und gar nicht die mit den größten Serumdosen behandelten sein müssen.

Alle diese Methoden ergeben zwar gute orientierende Resultate, insbesondere darüber, ob das untersuchte Serum ein Milzbrandimmunserum, oder aber ein Normalserum darstellt, doch sind sie keinesfalls fähig, und zwar auch das am meisten anerkannte und allgemein angewandte Sobernheimsche Verfahren, eine auch nur annähernd ge-

naue quantitative Bewertung der vorhandenen Immunitätseinheiten zu liefern.

Diese unbefriedigenden Ergebnisse sind auf zweierlei Gründe zurückzuführen: nicht entsprechende Versuchsobjekte einerseits und ungenaue Dosierung andererseits.

Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse sind milzbrandhochempfindliche Tierarten und diese Spezies-Sensibilität wird noch vielfach durch eine individuelle Ueberempfindlichkeit einzelner Tiere beeinflußt. Diese Faktoren würden auch bei genauer Dosierung des Infektionsstoffes zu unregelmäßigen Ergebnissen führen, noch mehr aber bei den üblichen groben Dosierungsmethoden.

Für die angeführten Versuche bildet die „1-Oesen-Kultur" in der Regel in 1000facher Verdünnung die Dosierungseinheit, welche der subjektiven Beurteilung unterliegend, auch bei ein und demselben Forscher stets diverse Bakterienmengen beherbergen wird. Ebenso ergeben die Agaraufschwemmungen und Bouillonkulturen unregelmäßige Resultate, da deren Keimgehalt von vielen äußeren Umständen, wie Zusammensetzung und Herstellungsart des Nährbodens, Intensität der Beimpfung, Aufschütteln des Röhrchens, Schichtenhöhe der Flüssigkeit etc. abhängig ist. Wenn auch bei vielen antibakteriellen Seren die mengenmäßige Dosierung der Kultur sich gut bewährt hat, kann dieses Dosierungsverfahren bei den hochpathogenen Milzbrandkulturen doch nicht zum Ziele führen.

Da die strikte Durchführung der Ehrlichschen Prinzipien bei der Milzbrandserumprüfung nicht möglich ist, versuchte ich, durch Auswahl eines geeigneteren Versuchsobjektes und durch genaue Dosierung der Kultur derselben näher zu kommen.

Dem als Indikator gewählten Versuchstier gegenüber stellte ich folgende Forderungen: Im Gegensatz zu der hohen und unregelmäßigen Empfindlichkeit der genannten Versuchstiere eine gewisse Milzbrandresistenz mit womöglicher Ausschaltung der individuellen Empfindlichkeit und so Impfreaktion nach dem Gesetz der Multipla; leichte Aufstellung der Relation zwischen dem Körpergewicht des Tieres und der applizierten Serummenge zur einfachen Bestimmung der Immunitätseinheiten; schließlich billige Anschaffungsmöglichkeit. In ziemlich hohem Maße entsprachen in meinen Versuchen allen diesen Anforderungen die jungen weißen Ratten von rund 100 g Körpergewicht. Die Ratten sind bekanntlich infolge stärkerer Alkalizität des Blutes im allgemeinen weniger empfindlich für Milzbrand und die jugendlichen Individuen reagieren viel regelmäßiger auf die Milzbrandinfektion, wie die alten, schweren Ratten und es stehen auch solche jungen Tiere infolge der raschen Vermehrungsfähigkeit in der Laboratoriumszucht jederzeit leicht zur Verfügung.

Als Basis für eine genaue Dosierung bei den Milzbrandkulturen kann nur die Dosierung nach der Keimzahl durch Auszählung der lebenden und entwicklungsfähigen Keime mit Hilfe des Plattenverfahren dienen. Ausgangsmaterial ist die 20stünd. Schrägagarkultur, mit 10 ccm NaCl-Lösung abgeschwemmt.

Die 1. orientierende Keimzählung unternehme ich bei einer millionenfachen Verdünnung mit 0,5 ccm Aufschwemmung, wobei in der Regel die ganze Plattenfläche dicht mit Keimen bedeckt ist. Zur annähernden Bestimmung der Keimzahl auf der dicht bedeckten Platte bediene ich mich eines primitiven Apparates. Da der Durchmesser der

Petri-Schalen durchschnittlich 9 cm beträgt, mache ich in einen Karton mittels eines Durchschlageisens 10 Löcher von je 9 mm Durchmesser. Auf Grund der Formel $r^2 \pi$ ergibt die Durchschnittsziffer, mit 100 multipliziert, die Gesamtbakterienmenge der Platte. Die weiteren Verdünnungen werden in dem Maße vorgenommen, daß eine Platte 100—200 Kolonien zählen und zur genauen Bestimmung dienen soll. In der Kulturverdünnung verschwinden die vegetativen Formen schon in den ersten Tagen, vom 7. Tage ab sind nunmehr nur Sporen vorhanden, deren Zahl ziemlich stabil bleibt und nur eine allmonatliche Kontrollzählung fordert.

Die auf der Platte entwickelten Kolonien ergeben nur dann ein treues Spiegelbild der zur Beimpfung verwendeten Keime, wenn sie von gleicher Größe sind, d. h. wenn jede Kolonie von einem einzigen Bakterienindividuum hervorgeht. Meistens erscheinen jedoch die Kolonien nach 48stünd. Bebrütung in verschiedener Ausbreitung und Form, ihr Durchmesser variiert zwischen 2 und 20 mm, teils aus Bakterienindividuen, teils aus Gruppen hervorgehend. Bei den angewandten vier Stämmen wuchsen allgemein bei Beimpfung mit Bouillonkulturen größere Kolonien empor, wie bei Anwendung der Agaraufschwemmungen, was ich damit erkläre, daß die Bouillonröhrchen in der Regel nur leicht aufgeschüttelt, dagegen die Agarkulturen durch kräftiges Drehen und Schlagen abgewaschen werden, wobei die langen Fäden teils in kürzere zerfallen. Auffälliger wird diese Erscheinung bei Benützung des Schüttelapparates. Im mikroskopischen Bilde zeigen die meisten Milzbrandstämme, die nach 20stünd. Bebrütung neben kleinen Verbänden auch aus langen Fäden bestehen, oft Tausende von Anthraxbazillen auf und dementsprechend erscheinen auch auf der Platte neben 2 mm breite Kolonien auch solche von 2 cm Breite und ungleichmäßiger Form. Je mehr die Kultur geschüttelt wird, desto mehr zerfallen die langen Fäden in ihre Elemente und desto gleichmäßiger gestalten sich die Kolonien auf der Platte. Nach $^1/_2$—2 Std. Schütteln, welches die Pathogenität und Virulenz des Stammes in keiner Weise schädigt, erzielt man in der Regel gleichmäßige Kolonien.

Einstellung der Kultur. Von den angewandten 4 Stämmen (Balog, Pola, Hyg. und Freyburg) eigneten sich die weniger virulenten (Freyburg und Hyg.) zu den Prüfungsexperimenten besser. Nachstehende Versuche wurden durchwegs mit dem Stamm „Freyburg“ ausgeführt, dessen Virulenz mit den Pasteur deuxieme vaccin übereinstimmt. Die Aufschwemmung entsprach der von Dr. Kettner hergestellten Versandkultur der Ges. f. Seuchenbekämpfung und enthält 15000 Keime po ccm.

Es wurden genau abgezählte Keimmengen in 10facher Verdünnung der Stammeslösung oder in unverdünnter Kulturflüssigkeit den 100 g weißen Ratten teils intraperitoneal, teils subkutan appliziert. Hierbei ergaben die ip. Injektionen völlig unregelmäßige Reaktionen — die kleineren Dosen töteten häufig früher, wie die mehrfachen von diesen Mengen ab, dagegen hatten die sk. Applikationen ziemlich regelmäßige Resultate. Die erste Aufgabe war nunmehr die Feststellung der Dosis letalis minima, wobei zuerst die in größerem Maße divergierenden Dosen: 500, 5000, 25000 Keime, danach die Zwischendosen den Ratten einverleibt wurden. Das Endergebnis war folgendes:

1 500	**Keime**	**weisen noch keine tödliche Wirkung auf**							
2 000	„	**töten**	**die**	**100**	**Gramm-Ratte**	**am**	**8.**	**Tag**
2 500	„	„	„	„	„	„	„	7.	„
3 000	„	„	„	„	„	„	„	7.	„
5 000	„	„	„	„	„	„	„	6.	„
10 000	„	„	„	„	„	„	„	5.	„
15 000	„	„	„	„	„	„	„	5.	„
20 000	„	„	„	„	„	„	„	4.	„
25 000	„	„	„	„	„	„	„	4.	„
30 000	„	**u. höhere Dosen töten die**				„	„	3.	„

Die Dosis let. min. beträgt also bei Beginn der Prüfungsversuche 2000 Keime ($1^1/_3$ ccm Aufschwemmung) und diese Keimmenge diente bei den ersten Wertbestimmungsexperimenten zur Infektion der Serum- und Kontrollratten. Diese Versuche hatten aber völlig negative Ergebnisse, da sowohl die kleinsten Mengen von Immunserum, wie auch Mitteldosen von Normalserum eine schützende Wirkung ausübten und den tödlichen Ausgang verhinderten.

Zu den weiteren Versuchen wählte ich infolgedessen eine Keimanzahl, welche die Tiere am 4. Tage sicher tötet, und welche Kulturmenge sich in allen Versuchen als gut geeignet erwies. Diese D o s i s l e t a l i s o p t i m a beträgt in den ersten Experimenten 25 000 Keime,

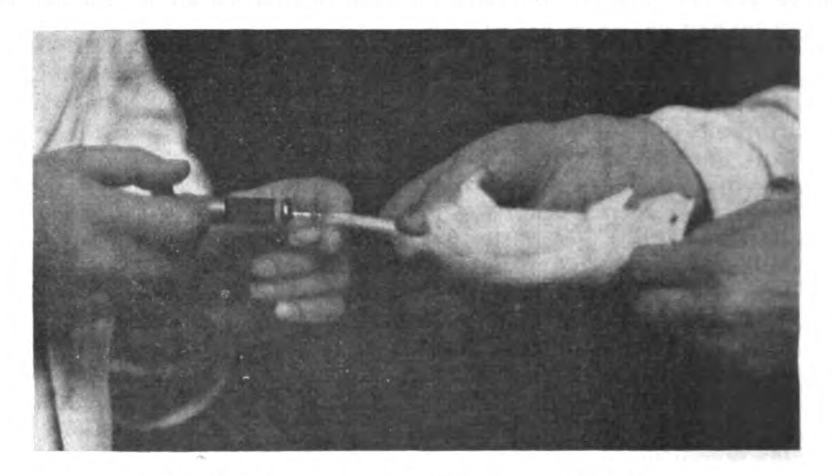


Fig. 1. Intravenöse Injektion einer weißen Ratte.

welche Zahl jedoch durch Abschwächung der Kulturflüssigkeit wiederholt erhöht werden mußte. Binnen 6 Monaten stieg die optimale letale Dosis fast auf das Doppelte, von 25 000 auf 45 000 Keime. Da anderseits durch die launenhafte Virulenz mancher Milzbrandstämme ein Umschlagen auch in anderer Richtung, d. h. eine Steigerung der pathogenen Fähigkeit nicht ausgeschlossen erscheint, so ist außer der Keimzählung auch auf die wiederholte Bestimmung der Dosis let. opt. besonderer Wert zu legen.

Der Prüfungsversuch wurde in der Weise vorgenommen, daß 6 weiße Ratten von je rund 100 g Körpergewicht steigende Mengen des zu prüfenden Serums, und zwar: 0,05, 0,08, 0,1, 0,15, 0,2 und 0,3 ccm erhielten, eine 7. Ratte als 1. Kontrolltier 0,3 ccm Normalserum (von Pferd oder Rind, je nach Provenienz). Anschließend an die Serumimpfung wurde dann allen mit Serum behandelten Ratten sowie

einem 2. Kontrolltier die Dosis let. opt. der Milzbrandkultur subkutan verimpft. Die Serumimpfungen nahm ich zuerst ip., danach iv. in die Schwanzvenen vor; beide Impfarten ergaben annähernd die gleichen Resultate. Untenstehend das Prüfungsergebnis des Pferde-Milzbrandimmunserums Op. Nr. 1 (konserv. m. 0,5 Proz. Phenol) am 11. 1., bei iv. Serum- und subk. Kulturapplikation:

Datum	R. 1	R. 2	R. 3	R. 4	R 5	R. 6
	0,05	0,08	0,1	0,15	0,2	0,3
12. 1.	0	0	**Mit Dosis 0,1 ccm wurden**	0	0	0
13. 1.	0	0	**2 Tiere iv. beimpft**	0	0	0
14. 1.	0	0	**R. 3 a) reagierte während der iv.**	0	0	† 6
15. 1.	0	0	**Applikation derart heftig, daß**	0	0	.
16. 1.	† 5	† 5½	**die Impfung unterbrochen**	† 5	0	.
17. 1.	.	.	**werden mußte**	.	† 6	.
18. 1.	.	.	**R. 3 b) † in 1h unter Vergiftungs-**	.	.	.
19. 1.	.	.	**erscheinungen**	.	.	.

Datum	Kontrollen	
	R. 7	R. 8
	0,3 Normalserum	Kultur allein
12. 1.	0	0
13. 1.	0	0
14. 1.	† 3	0
15. 1.	.	† 4

Dieser Versuch stellt den Prototyp eines unregelmäßigen Verlaufes dar. Von den kleinen Dosen übten 0,05 und 0,08 ccm, von den mittleren 0,15 und 0,2 ccm eine gewisse Schutzwirkung gegenüber der Milzbrandinfektion aus, indem sie den Tod gegenüber dem unbehandelten Kontrolltier 1—2 Tage hinausschoben. Dagegen starben von den zwei mit 0,1 ccm behandelten Tieren das eine 1 Std. nach der Impfung unter Erscheinungen hochgradiger Dyspnoe, Zuckungen und Krämpfe, ein zweites reagierte schon während der Impfung mit derart heftigen Atembeschwerden und Zuckungen, daß schon nach Einverleibung der Hälfte der Serumdosis, also 0,05 ccm, die Impfung unterbrochen werden mußte. Wider Erwarten starb die mit der größten Immunserummenge von 0,3 ccm behandelte Ratte 6, ebenso wie die mit gleicher Dosis Normalserum behandelte Kontrollratte 7 30 Std. früher, wie das nur mit der Kultur infizierte Kontrolltier. Bei den zwei mit 0,1 ccm behandelten Tieren ruft also die Seruminjektion Vergiftungserscheinungen hervor. Bei den mit den größten Immun- und Normalserumdosen behandelten Ratten wurde nicht nur jedwede Schutzwirkung vermißt, ja sogar, diese Tiere verloren ihre natürliche Widerstandsfähigkeit.

Den störenden Faktor in dem Serum festzustellen, war die Aufgabe der weiteren Versuche:

5 Gruppen von Ratten erhielten verschiedene Mengen einer 0,5-proz. Karbollösung in physiologischer Kochsalzlösung, und zwar teils allein, teils mit Milzbrandkulturen, noch eine 6. Gruppe zur Kontrolle die Kultur allein.

Gr. I. Die Tiere erhielten 0,05—0,3 ccm der Lösung iv. in die Schwanzvene. Reaktion verschieden. Etliche zeigen schon während der Impfung schwere Vergiftungserscheinungen: Zittern, Dyspnoe, Erstickungsanfälle, tonisch-klonische Krämpfe. Einige von den Ratten

reagierten stark schon von 0,05 ccm; Tod tritt gewöhnlich nach der Applikation von 0,1—1 ccm ein, aber andere überleben nach heftiger Reaktion die mehrfachen der Dosen, trauern aber noch 3 Tage. Die Ueberlebenden sind am 4. Tag munter.

Gr. II. 0,5—3 ccm ip. einverleibt. Reaktion tritt erst 2 Min. nach der Impfung ein, Erscheinungen wie bei Gr. I. Die kleinste tödl. Dos. 2 ccm, bei kleineren Mengen nach heftigen Reaktionen Erholung in 3 Tagen.

Bei beiden Gruppen ist eine individuelle Empfindlichkeit augenscheinlich; manche Tiere werden von kleineren Dosen getötet, während andere bei dem Mehrfachen dieser Menge mit leichter Reaktion davonkommen.

Gr. III. Iv. Karbolinjektion, nach Ablauf der ersten schweren Vergiftungserscheinungen und Eintritt der Beruhigung 25000 Keime subk. Nach der Kulturinjektion zeigen sich die Vergiftungserscheinungen wieder, insbesondere sind die Haare gesträubt, dagegen nervöse Symptome weniger auffallend, Tod in etlichen Stunden bis 1—2 Tagen.

Gr. IV. Ip. Karbol-, nach Erholung Kulturinjektion. Verlauf wie bei Gr. I.

Gr. V. Kontrolle, nur Kulturimpfung, Tod am 4. Tag.

Wie ersichtlich, hatte die Phenollösung, jungen weißen Ratten sowohl iv. wie ip. einverleibt, starke Giftwirkung, welche individuell stark variierte. Oft haben die verhältnismäßig kleinen Dosen schon tödliche Wirkung, während größere Mengen nur mehr oder weniger ausgeprägte Vergiftungserscheinungen und Erhöhung der individuellen Empfänglichkeit gegen die darauffolgende Milzbrandinfektion hervorrufen, so daß diese Tiere früher starben, wie die Kontrollen ohne Karbol-, nur mit Kulturbehandlung. Der störende und unregelmäßige Resultate auslösende Faktor in den Prüfungsversuchen bei iv. und ip. Serumapplikation war also die Konservierungsflüssigkeit. Diese Störung ist entweder durch Anwendung nicht karbolisierter Sera, oder aber durch die subk. Serumimpfung auszuschalten.

Um die Wirkung der Konservierungsflüssigkeit bei subk. Serumeinverleibung festzustellen, wurde noch eine 6. Gruppe mit 0,5proz. Karbollösung in physiol. NaCl-Lösung subk. behandelt. Diese Impfung ertragen die Tiere bis zu der hohen Dosis von 3 ccm ohne Reaktion, erst ab 4 ccm reagierten sie mit Unruhe, Herumlaufen im Käfig, Krämpfe, welche in der Regel häufig abflauen und die Ratten sich in 5—6 Std. erholen. Die sicher letale Dosis beträgt 10 ccm der Lösung.

Da für die Prakis ausschließlich das konservierte Milzbrandserum in Frage kommt, wurde in den weiteren Versuchen solches nunmehr subk. appliziert, welche Methode neben Vereinfachung der Technik auch andere günstige Resultate zeitigte.

Technik und Gang der Prüfung:

Vorversuch: Bestimmung der Keimanzahl der Impfkultur, 2 Platten 2 Tage im Brutschrank.

Vorbereitung: Je eine kleine Flasche der Kochsalzlösung, des zu prüfenden Serums, Normalserums, Kultur. 3 Spritzen, 3 leere sterile Flaschen von verschiedener Größe oder Farbe (zum Vermeiden der Verwechslung).

Flasche 1 für die Verdünnung 1:10 des Normalserums
„ 2 „ „ „ 1:10 des zu prüfenden Serums
„ 3 „ „ „ 1:20 „ „ „ „

8 junge, weiße Ratten, zur Vermeidung der gegenseitigen Infektion jede für sich in abgesondertem Käfig (größeres Mäuseglas). Die Tiere sind vor der Impfung abzuwiegen, größere Abweichungen von 100 g Körpergewicht wie 5 g (95—105 g) sind zu vermeiden. (Die Anwendung verschieden großer Ratten und das Variieren der Kulturdosen entsprechend des Gewichts führt zu unregelmäßigem Verlauf.) Bezeichnung der Tiere vor der Impfung. Die Impfdosen sind:

1. 0,05 ccm Serum = 1,0 ccm der Verdünnung 1 : 20 (= 19 ccm NaCl-Lös. + 1 ccm Serum)
2. 0,08 „ „ = 1,5 „ „ „ 1 : 20
3. 0,1 „ „ = 2,0 „ „ „ 1 : 20
4. 0,15 „ „ = 1,5 „ „ „ 1 : 10 (= ccm 18 NaCl-Lös. + 2 ccm Serum)
5. 0,2 „ „ = 2,0 „ „ „ 1 : 10
6. 0,3 „ „ = 3,0 „ „ „ 1 : 10

Anschließend an die subk. Serumimpfung ebenfalls subk. Injektion der Kultur. Von den 2 Kontrollratten erhielt die eine 0,3 ccm (3 ccm der 1 : 10 Lösung) des (dem Immunserum entsprechenden) Normalserums und darauffolgend die Kultur, das 2. Kontrolltier nur Kultur allein. (Ich verimpfe das Serum links, die Kultur rechts, einstechend in die Schulturgegend und injizierend in die Kniegelenkhautspalte der Hinterbeine.) Die Beobachtung dauert 9 Tage, Abschluß am 10. Tag.

Bei regelrechtem Verlauf des Versuches sterben die Kontrollen am 4. Tage, ausnahmsweise die mit Normalserum behandelten mit $^1/_2$ Tag Verzögerung. Die mit Immunserum geimpften überleben die Kontrollen je nach den Serumdosen 1—5 Tage, resp. diejenigen, welche die größten Serumdosen erhielten, bleiben bis zum Abschluß des Versuches oder endgültig am Leben.

Symptome: Alle infizierten Tiere zeigen in der Regel bis zum 3. Tag gar keine Krankheitserscheinungen. Erst 24 Std. vor Eintritt des Todes werden sie traurig, ziehen sich an einem Platz des Käfigs zusammen, bewegen sich träge, reagieren kaum auf das Klopfen am Glas; es stellt sich häufig Durchfall, oft blutig, ein, sowie auch Hämaturie. Wenn die Tiere mit gesträubtem Haare, halbgeschlossenen Augen regungslos liegen, ist dies ein Zeichen des baldigen Todes, welcher dann in 5—6 Std. eintritt.

Sektionsbefund: Ausgebreitete gelbrote, gallertartige Infiltration und hämorrhagische Entzündung der Subcutis und der Muskulatur an der Infektionsstelle. Serösfibrinöse Bauchfellentzündung. Hochgradiger akuter Milztumor mit breiiger Pulpa, parenchyme Leberdegeneration, starke Hyperämie in den Nieren, Lunge oedematös und blutreich, alle Lymphknoten geschwollen, Gastroenteritis mit schwerer hämorrhagischer Entzündung des Dünndarmtraktus, Gehirnhäute hyperämisch. Bakterien in allen inneren Organen, insbesonders Milz, Nieren, Lymphknoten, sowie in den sulzig-hämorrhagischen Infiltrationsfeldern mikroskopisch und kulturell nachweisbar.

Untenstehend ein Prüfungsversuch des Pferde-Milzbrandserums Op. Nr. 1 der G. f. S. konserv. mit 0,5 Phenol, steril, bei subk. Serum- und Kulturinjektion (siehe Wertbestimmung am 14. 12. S. 500).

Bei diesem regelrechten Verlauf konnte nach Abschluß des Versuches insofern eine Unregelmäßigkeit festgestellt werden, als in dem weiteren Verlaufe Ratte 6 (0,3) am 12., Ratte 5 (0,2) am 13. Tage starben, wogegen Ratte 4 (0,15) am Leben blieb, eine Unregelmäßigkeit, welche auch bei anderen bakteriellen Seren nicht selten zum Vorschein kommt.

Bezeichnung der Wertigkeit. Jene Milzbrandserummenge, welche 1 g Rattenkörpergewicht gegen die am 4. Tag tötende Kultur-

Wertbestimmung am 14. 12.

Milzbrandserum Nr. 1 — Kultur: Stamm Freyburg, Dos. let. opt.: 25 000 Keime

Dosis 0,05 R. 1. Gewicht 105 g. Zeichen: Kopf rot		**Dosis 0,08** R 2. Gewicht 100 g. Zeichen: Nacken rot	
Datum		Datum	
15. 12.	0	15. 12.	0
16. 12.	0	16. 12.	0
17. 12.	0	17. 12.	0
18. 12.	0	18. 12.	0
19. 12.	† 5	19. 12.	0
20. 12.	.	20. 12.	† 6
21. 12.	.	21. 12.	.
22. 12.	.	22. 12.	.
23. 12.	.	23. 12.	.

Dosis 0,1 R. 3. Gewicht 102 g. Zeichen: Rücken rot		**Dosis 0,15** R. 4. Gewicht 95 g. Zeichen: Steiß rot	
Datum		Datum	
15. 12.	0	15. 12.	0
16. 12.	0	16. 12.	0
17. 12.	0	17. 12.	0
18. 12.	0	18. 12.	0
19. 12.	0	19. 12	0
20. 12.	0	20. 12.	0
21. 12.	0	21. 12.	0
22. 12.	† 8	22. 12.	0
23. 12.	.	23. 12.	0

Dosis 0,2 R. 5. Gewicht 100 g. Zeichen: Rechter Vorderfuß rot		**Dosis 0,3** R. 6. Gewicht 100 g. Zeichen: Linker Vorderfuß rot	
Datum		Datum	
15. 12.	0	15. 12.	0
16. 12.	0	16. 12.	0
17. 12.	0	17. 12.	0
18. 12.	0	18. 12.	0
19. 12.	0	19. 12.	0
20. 12.	0	20. 12.	0
21. 12.	0	21. 12.	0
22. 12.	0	22. 12.	0
23. 12.	0	23. 12,	0

Kontrollratten

Dosis: 0,3 Normalserum 1 ÷

Datum	R. 7. Gewicht 100 g. Z.-R. H. r.	R. 8. Gewicht 95 g. Z. l. H. rot
15. 12.	0	0
16. 12.	0	0
17. 12.	0	0
18. 12.	† 4	† 4
19. 12.	.	.

dosis schützt, besitzt 1 Immunitätseinheit. Wenn z. B. bei Verabreichung von 0,1 ccm Serum die 100 g-Ratte am 9. Tage nach der Infektion noch glatt ist, wenn also 1 ccm von diesem Serum 1000 g Rattenkörpergewicht gegen die Dosis let. opt. schützt, besitzt das Serum 1000 IE. pro ccm. (In der Bezeichnung ist insofern eine Abweichung von der üblichen Wertbenennung der antibakt. Sera, da im allgemeinen ein Serum, von welchem $^1/_{100}$ ccm das Versuchstier (Maus) der sicher tödlichen Dosis gegenüber schützt, als 100faches qualifiziert

wird). Das oben geprüfte Serum schützt in der Menge von 0,15 ccm gegen die optimale letale Kulturdosis, besitzt also rund 750 (genau 733) IE. pro ccm. Für praktische Zwecke genügt es meines Erachtens, wenn das Serum ein 500faches ist, d. h. wenn davon 0,2 ccm eine sicher schützende Wirkung ausüben.

Zusammenfassung.

Auf Grund einer exakten Kulturdosierung auf bestimmte Mengen Rattenkörpergewicht ist eine, im biologischen Sinne genaue Bestimmung der Immunitätseinheiten in dem Milzbrandserum zu erreichen. — Um störende Nebenwirkungen auszuschalten, ist sowohl die Kultur, wie das Serum den 100 g weißen Ratten subkutan zu verimpfen. — Kulturdosis ist: die am 4. Tage tötende Kulturmenge, die Serumdosen sind: 0,05, 0,08, 0,1, 0,15, 0,2 und 0,3 ccm, die Kontrollen sind mit Normalserum resp. mit Kultur allein zu behandeln. — Jene Serummenge, welche 1 g Rattenkörpergewicht gegen die Kulturinfektion bis zum 9. Tage schützt, enthält 1 IE.

Der Erreger der akuten Mittelohrentzündung.

Beitrag zur Bakteriologie des Streptococcus mucosus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg (stellvertr. Direktor: Prof. Dr. E. Dresel).]

Von Dr. med. **Erich Wirth.**

Auf Anregung von Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Kümmel (Ohrenklinik) untersuchten wir in den letzten 10 Monaten 84 Eiterproben von akuten Mittelohrentzündungen. Das Sekret wurde nach der Parazentese in feine Glasröhrchen steril angesaugt, eine Methode, die schon Süpfle (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. S. 417) vor 20 Jahren auf Kümmels Vorschlag angewandt hat, und die auch uns wieder sehr befriedigte.

Da Wittmaack (Dtsch. med. Wochenschr. 1906. S. 1271), insbesondere für die Diagnose des Streptococcus mucosus, die Bedeutung des frischen Eiterausstrichs hervorhebt, und auch Plaut (Arch. f. Ohrenheilk. 1925) den Wert des Nativpräparates wieder betont, schenkten wir der mikroskopischen Betrachtung des frischen Eiterausstriches nicht weniger unsere Aufmerksamkeit, als dem Kulturverfahren.

Wir färbten je 1 Präparat nach Gram, nach Ziehl und mit Wittmaackscher Thioninlösung. Für den kulturellen Nachweis der Erreger bedienten wir uns gleichzeitig der Schottmüllerschen Blutagarplatte und der Heimschen Leber-Leber-Bouillon (Heim, Lehrb. d. Bakt. 1922. S. 394 u. 161), nachdem sich die Ueberlegenheit dieser Nährböden über die anderen Kulturverfahren sehr bald herausgestellt

hatte. Insbesondere bietet die Leberbouillon mit ihren anaëroben Bedingungen für den schwer züchtbaren Streptococcus mucosus bedeutende Vorteile, so daß wir ihn des öfteren erst nach Anreicherung in Leberbrühe auf Blutagar nachweisen konnten.

Erhebliche Schwierigkeiten machte die Diagnose des Strept. mucosus. Schon Süpfle (Centralbl. f. Bakt. Bd. 42. S. 689) züchtete aus einem Ohreiter „einen schwer züchtbaren mäusepathogenen Kapselstreptokokkus", der bei runder Kokkenform und langer Kettenbildung durch fehlende Schleimbildung vom typischen Strept. mucosus abwich.

Arzt (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54 S. 398) fiel beim Studium von drei Strept. mucosus-Stämmen die wechselnde Form der Kokken auf. Er sah beim gleichen Stamm bald Fliegenmadenformen, bald Pneumokokken ähnliche Lanzettkokken und kam zu dem Schlusse, daß sich ein bestimmter morphologischer Typus für seine Mucosus-Stämme nicht aufstellen läßt.

Wir selbst konnten ganz ähnliche Beobachtungen machen: In 2 von 9 Eiterproben, die mikroskopisch Strept. mucosus-verdächtige Ketten enthielten, handelte es sich um Kapselkokken ohne Schleimbildung auf der Blutplatte. Sie zeigten zwar bei der Fortzüchtung morphologisch bald Strept. mucosus, bald Pneumokokken ähnliche Formen, aber nie schleimiges Wachstum.

4 Eiterausstriche enthielten mikroskopisch nur Lanzettkokken ohne längere Ketten, deren Kapsel auch nicht mit Thionin färbbar war, und doch war das Wachstum ausgesprochen schleimig.

Wir züchteten unsere Mucosus-Stämme wochenlang bei 2tägiger Ueberimpfung auf Blutagar weiter. Dabei blieb die Schleimbildung in allen Fällen vorhanden, vorausgesetzt, daß die Blutplatten genügend Feuchtigkeit enthielten. Auch durch fraktionierte Plattenaussaat oder intraperitoneale Injektion von Mäusen konnten wir keine Kolonien ohne Schleimbildung abspalten. Dagegen war die Kokkenform in diesen Kulturen außerordentlich wechselnd, und zwar vor allem bei denjenigen Stämmen, deren Nativpräparat schon Lanzettkokken enthalten hatte. Oft war auf Grund des mikroskopischen Bildes eine Unterscheidung von Pneumokokken nicht möglich.

Bei der Konstanz der Schleimbildung und angesichts der Tatsache, daß wir mit Arzt (l. c.) nicht imstande sind, einen bestimmten morphologischen Typus des Strept. mucosus aufzustellen, glauben wir mit Schottmüller, nur diejenigen Kapselkokken als Strept. mucosus ansprechen zu sollen, die auf feuchtem Blutagar mindestens nach 3maliger Ueberimpfung Schleimbildung aufweisen. Die Uebereinstimmung von schleimigem Wachstum und besonderer Kokkenform (Fliegenmadenketten) fehlte in 5 von 16 unserer Mucosus-Eiter. Wollte man morphologische Eigentümlichkeiten, d. h. die Bildung von sogen. Fliegenmadenformen, für das entscheidende Merkmal des Strept. mucosus halten, so wäre man bei einem Teil der fortgezüchteten Stämme genötigt, alle 24 Std. die Diagnose zu wechseln.

An anderer Stelle werden wir noch ausführlich mitteilen, daß wir biologische Unterschiede zwischen 20 Strept. mucosus- und 15 Pneumokokkenstämmen nicht finden konnten. In Galle, Milch und auf zahlreichen anderen, eigens zusammengestellten Nährböden wichen sie in gleicher Weise sowohl vom Streptococcus haemol. als vom Strept. viridans ab.

Bei einem der nicht schleimig wachsenden Stämme mit Fliegenmadenformen konnte eine deutliche Beeinflussung mit agglutinierendem Pneumokokkenserum des Typus 1 erzielt werden. Vielleicht bietet sich hier ein Weg, die Frage nach der Zugehörigkeit dieser Stämme zu lösen.

Nun glaubt Wittmaack (Dtsch. med. Wochenschr. 1906. S. 1271) in der Färbung mit wässeriger Thioninlösung ein Differenzierungsmittel gegenüber den Pneumokokken gefunden zu haben, derart, daß nur die Kapseln des Strept. mucosus den rötlichen Farbton annehmen sollen.

Schuhmacher (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. S. 628) betont aber, daß die Kapselfärbung des Strept. mucosus überhaupt oft nur von Zufälligkeiten abhängig ist; sie gelingt keineswegs immer mit Sicherheit, und er hält die einfache Färbung mit Gentianaviolett bei vorsichtiger Fixierung mit Alkohol für nicht wesentlich unsicherer, als die teilweise recht feinen anderen Methoden. Auch Süpfle (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Bd. 42. S. 608) erhielt im Eiter mit der Gramschen Färbung stets sehr gute Resultate.

Wir selbst konnten mit der Gramschen Färbung und etwas längerer Nachbehandlung mit verdünnter Fuchsinlösung die Kapseln gut darstellen. Die besten Resultate lieferte uns entschieden die Giemsa-Färbung. Mit dem uns zur Verfügung stehenden Thionin (frisch von Grübler und den Höchster Farbwerken bezogen) konnten wir nur in einem Teile der Eiter die Kapseln der Mucosus-Streptokokken färben.

Bei der geschilderten Vielgestaltigkeit des Strept. mucosus und den gegenteiligen eigenen Befunden erscheint uns die Wittmaacksche Behauptung, daß die Thioninfärbung spezifisch sei für die Kapseln des Strept. mucosus weiterer Nachprüfung bedürftig.

(Wie wir dazu von Herrn Prof. Wittmaack hören, liefert das jetzt im Handel befindliche Thionin nicht mehr die zuverlässigen und schönen Färbungen wie vor dem Kriege. Verhandlungen über die Herstellung eines einwandfreien Farbstoffes seien aber mit der Firma Grübler-Hollborn im Gange.)

Leider ist der kulturelle Nachweis des Strept. mucosus nicht in allen Fällen möglich. In 5 von 21 Eitern, die mikroskopisch typische Fliegenmadenketten enthielten, konnte die mikroskopische Wahrscheinlichkeitsdiagnose des Strept. mucosus nicht durch das Kulturverfahren erhärtet werden.

Richtig diagnostiziert auf Grund des morphologischen Verhaltens im nach Gram und Wittmaack gefärbten Eiterausstrich haben wir den Strept. mucosus von 16 kulturell positiven Fällen nur 7mal. In der Mehrzahl dieser Eiter fehlten die Fliegenmadenformen; entweder fand man mikroskopisch überhaupt keine Bakterien, oder nur uncharakteristische Kapselkokken.

Nicht richtig war die mikroskopische Diagnose des Strept. mucosus aus dem Eiterausstrich von 9 Eitern mit Fliegenmadenketten 2mal.

Um den Gesamtanteil des Strept. mucosus zu berechnen, müssen wir zu den 16 kulturell sichergestellten die mikroskopisch verdächtigen, aber steril gebliebenen zum Teil hinzurechnen. Da nach unseren Untersuchungen die mikroskopische Diagnose von 9 Fällen 7mal richtig war, dürften von den 5 verdächtigen Eitern 4 mit größter Wahrscheinlich-

keit den Strept. mucosus tatsächlich enthalten haben. Demnach fanden wir den Strept. mucosus in 84 Eiterproben 20mal = in 23,8 Proz.

Dazu dürften aber noch einige Prozent hinzukommen. Denn die 5,9 Proz. unserer Eiter, in denen weder mikroskopisch noch kulturell Erreger nachweisbar waren (2mal), oder in denen nur Saprophyten wie Pseudodiphtheriebazillen (1mal), Staphylococcus albus (2mal) festgestellt werden konnten, lassen mit großer Wahrscheinlichkeit die Vermutung offen, daß auch hier der oft nur spärlich anwesende und dann schwer nachweisbare Strept. mucosus der Krankheitserreger war.

Süpfles Eiter waren zu 17,3 Proz. steril. Die Keimfreiheit dieser Sekrete in Frage zu stellen, wüßte Süpfle keinen Grund, zumal sie vor allem von Tubenkatarrhen oder von äußerst leicht verlaufenen Otitiden stammten. Mit großer Wahrscheinlichkeit dürfte aber bei einem Teile dieser Eiter der Strept. mucosus dem Nachweis entgangen sein; denn wenn man die Zahlen Süpfles, die auch sonst auffallend mit den unsrigen übereinstimmen, mit den unsrigen vergleicht, so zeigt sich, daß die Summe der sterilen und der mucosushaltigen Eiter bei beiden annähernd die gleiche ist.

	Wir	Süpfle
Mucosus	23,8	11,5 Proz.
Steril	5,9	17,3 „
	29,7	28,8 Proz.

Es ist wohl anzunehmen, daß Süpfle bei Verwendung der Leberbouillon als Anreicherungsmittel auch noch in einem Teil seiner „sterilen“ Eiter den Strept. mucosus hätte nachweisen können.

Auf die starken Schwankungen, denen die prozentuale Beteiligung des Strept. mucosus in den einzelnen Monaten unterworfen war, glauben wir noch hinweisen zu sollen. Eine monatliche Gegenüberstellung der Fälle, in denen als Erreger Strept. haemol. und Staphylococcus aureus mit den Fällen, in denen Pneumokokken, Strept. mucosus keine oder nur saprophytische Keime nachweisbar waren, gibt folgende Uebersicht:

	Strept. haem. Staph. aureus	Strept. muc. Pneumokokken Saprophyten Steril		Strept. haem. Staph. aureus	Strept. muc. Pneumokokken Saprophyten Steril
April	5	2	September	0	2
Mai	1	3	Oktober	1	0
Juni	7	3	November	6	10
Juli	6	0	Dezember	5	4
August	2	0	Januar	11	9

Bei der Empfindlichkeit des Strept. mucosus und der Pneumokokken, die wir zusammen 20mal aus 84 Eitern züchten konnten, ist die Wahl der Kulturverfahren von entscheidender Bedeutung. Nach unserer Kenntnis der Literatur ist die Kombination der Leberbouillon und der Blutagarplatte für den Nachweis der Erreger der akuten Mittelohrentzündung noch nicht angewendet worden.

Statistiken über den Nachweis derartig empfindlicher Keime sind nur dann vergleichbar, wenn sie auf den gleichen Kulturverfahren

fußen. Wir beschränken uns daher auf einen Vergleich mit den von Süpfle an seinem, aus der gleichen Klinik stammenden Material gefundenen Zahlen. Dieser hat auch, soweit wir die Literatur übersehen, als einziger Untersucher die uns unerläßlich erscheinende Schottmüllersche Blutagarplatte benutzt, und seine Untersuchungen erstrecken sich ebenfalls auf einen längeren Zeitraum.

Den Strept. haemol. fanden wir 36mal, d. h. in 42,9 Proz. (Süpfle 38,4 Proz.), und zusammen mit dem Staph. aureus 9mal, d. h. in 10,7 Proz. (Süpfle 9,6 Proz.) der Eiter.

6mal, d. h. in 7,1 Proz. (Süpfle in 13,4 Proz.) sahen wir Pneumokokken, davon 2mal nur mikroskopisch, 3mal Staph. aureus, 1mal den Strept. viridans Schottmüller.

Ueber die übrigen Krankheitskeime, die wir in dem Mittelohreiter feststellen konnten, unterrichtet die folgende Zusammenstellung:

	Kultur	Nur mikroskopisch	In Proz.	Süpfle	
Strept. haemol.	36	.	42,9 Proz.	20	38,4 Proz.
Strept. haem. + Pyocyaneus	1	.	.	.	.
Strept. haem. + Staph. aureus	9	.	10,7 Proz.	5	9,6 Proz.
Strept. viridans	1	.	.	.	.
Strept. mucosus	15	5	23,8 Proz.	6	11,5 Proz.
Strept. muc. + Staph. aureus	1	.	.	.	.
Staph. aureus	3	.	.	4	.
Pneumokokken	4	2	7,1 Proz.	7	13,4 Proz.
Tuberkelbazillen	.	2	.	1	.
Pseudodiphtheriebazillen	1	.	} 5,9 Proz.	.	} 17,3 Proz.
Staph. albus	2	.		1	
Steril mikrosk. u. kulturell	2	.		8	
	75 + 84	9		52	

Von 13 Eitern, die bei Antrotomieen dem Warzenfortsatz entnommen waren, enthielten 6 hämol. Streptokokken, 5 Strept. mucosus, 1 Pneumokokken, 2 blieben steril (davon waren in einem mikroskopisch Mucosus verdächtige Ketten). Die prozentuale Beteiligung des Strept. mucosus, die wir insgesamt mit etwa 25 Proz. berechneten, ist hier also wesentlich höher. Süpfle sah den Strept. mucosus in 16 Antrotomieeitern nur 3mal.

Bei otogener Sepsis mit tödlichem Ausgang züchteten wir 2mal hämol. Streptokokken aus dem Blut, 1mal Strept. mucosus und 1mal Staph. aureus aus dem Liquor. Die entsprechenden Erreger waren jeweils auch im Ohreiter nachweisbar. 1mal konnten Tuberkelbazillen im Ohreiter (neben hämol. Streptokokken) und im Liquor durch Tierversuche festgestellt werden.

Zusammenfassung.

Aus den mitgeteilten Untersuchungen von 84 Eitern bei akuter Mittelohrentzündung geht hervor, daß in 53,8 Proz. hämol. Streptokokken, in 23,8 Proz. Strept. mucosus als Erreger festgestellt wurden.

Die Differenzen, welche die Literatur in der prozentualen Beteiligung des Strept. mucosus aufweist, sind einmal darauf zurück-

zuführen, daß der Strept. mucosus zu gewissen Zeiten gehäuft auftritt, vor allem aber auf die Schwierigkeiten, die sich sowohl der Diagnose als auch dem Nachweis des Strept. mucosus entgegenstellen. — Bei 5 von 16 Mucosus-Stämmen fehlte die Uebereinstimmung von besonderer Kokkenform (Fliegenmadenform) und Schleimbildung, so daß sich ein gemeinsamer morphologischer Typus des Strept. mucosus keineswegs aufstellen ließ. Da wir bei monatelanger Fortzüchtung unserer Mucosus-Stämme die Schleimbildung konstant, die Kokkenform aber wechselnd fanden, glauben wir mit Schottmüller, die Diagnose von dem Vermögen schleimigen Wachstums auf der feuchten Blutagarplatte abhängig machen zu sollen. — Nur in 44 Proz. der kulturell sichergestellten Mucosus-Eiter war die Diagnose schon aus dem gefärbten (nach Gram und Wittmaack) Eiterausstrich auf Grund der Fliegenmadenform der Ketten zu stellen. In der Mehrzahl der Eiter war der Strept. mucosus nur spärlich und in uncharakteristischer Form vorhanden. — Die Wittmaacksche Thioninfärbung wurde nur von einem Teil der Mucosus-Kapseln angenommen. — Nicht immer handelte es sich beim Vorhandensein von typischen Fliegenmadenketten im Eiter auch um schleimig wachsende Mucosus-Streptokokken. — In 5 von 14 Fällen mit Fliegenmadenketten blieb im Eiter die Kultur steril. — 5,9 Proz. der zur Untersuchung gelangten Eiter waren mikroskopisch und kulturell steril oder enthielten nur saprophytische Keime. Auch in einem Teil dieser Fälle dürfte der Strept. mucosus der eigentliche Erreger sein. — Beim Kulturverfahren hatten wir gute Ergebnisse mit der Anreicherung in Leberbouillon. Alle diese Punkte sind bei Diagnose und Nachweis des Strept. mucosus zu berücksichtigen. Keineswegs ist es angängig, nur eines dieser Verfahren in Anwendung zu ziehen. Auch der gefärbte Eiterausstrich ist nur ein, wenn auch unentbehrliches, Glied in der Kette der Untersuchungsmethoden.

Von den bei Antrotomien dem Warzenfortsatz entnommenen Eitern enthielten 6 hämol. Strept., 5 Strept. mucosus, einer Pneumokokken, 2 blieben steril. Bei einer Gesamtbeteiligung von 53,8 Proz. (hämol. Streptokokken) und 23,8 Proz. (Strept. mucosus) scheint es demnach doch, als ob die Fälle akuter Mittelohrentzündung mit dem Strept. mucosus als Erreger besonders häufig zu ohne Operation irreparablen Warzenfortsatzerkrankungen führten.

Perorale Chininprophylaxe bei der Proteosoma-praecox-Infektion.

[Aus der Abteilung für Chemotherapie des Institutes für Infektionskrankheiten „Robert Koch".]

Von Dr. **W. Brünn.**

Um das auch heute noch nicht gelöste Problem der Chininwirkung bei der menschlichen Malaria zu klären, sind seit langem experimentelle Untersuchungen bei der Vogelmalaria angestellt worden. So hat Anschütz (1) Proteosoma-infizierte Kanarienvögel mit $^1/_4$, $^1/_2$, 1 mg Chinin. mur. behandelt, ohne indes eine nennenswerte Wirkung beobachten zu können. Kopanaris (2) bewirkte bei intramuskulärer Injektion von 2,5 mg nach 12—24 Std. eine Verminderung, bei manchen Vögeln nach 2—3 Tagen ein vollständiges Verschwinden der Parasiten. Bei fraktionierten Dosen von 1,25 mg war das Ergebnis anscheinend nicht so günstig, während eine prophylaktische Wirkung des Chinins überhaupt nicht zu konstatieren war. L. H. Marks (3) berichtet, daß die intramuskuläre Verabreichung von Chinin ohne besonderen Einfluß auf die Parasiten der Vogelmalaria gewesen ist; selbst bei täglicher Injektion traten sowohl im Schutz- wie im Heilversuch gleichzeitig mit den Kontrollen die Parasiten im Blut auf, und die Infektion nahm ihren gewöhnlichen Verlauf. Dagegen vermochte Chinin per os das Angehen der Infektion um 17—32 Tage zu verzögern. Die Verfütterung wurde nach der von Ehrlich (4) angegebenen Biskuitmethode vorgenommen, da sich Marks die von ihm selbst eingeführte Sondenfütterung nicht bewährte. In mehreren Arbeiten haben Et. und Ed. Sergent (5) die therapeutische und prophylaktische Wirkung des Chinins beim Proteosoma praecox untersucht und sind dabei zu wichtigen Ergebnissen gelangt. Die Prophylaxe, die uns hier besonders interessiert, wurde von den Brüdern Sergent in der Weise vorgenommen, daß sie infizierten Kanarienvögeln 0,7 mg intramuskulär injizierten, und zwar im Beginn täglich, späterhin alle 2 Tage. Hierdurch erreichten sie, daß 1) die Infektion latent blieb, so lange das Chinin verabreicht wurde, 2) daß nach Absetzen der Prophylaxe die Infektion weit milder verlief als bei den Kontrollvögeln, ja zuweilen ganz wegblieb. Morgenroth und Abraham haben gleichfalls ausgedehnte prophylaktische Versuche mit Injektionsbehandlung angesetzt, über die in anderem Zusammenhang berichtet wird.

Um die Experimente mehr der Wirklichkeit anzugleichen, gleichzeitig auch in Hinblick auf die Angabe von Marks (3), der die perorale Verabreichung wirksamer fand als die intramuskuläre, habe ich die Möglichkeit und die Wirkung einer peroralen Chininprophylaxe zum Gegenstand der folgenden Untersuchungen gemacht: Als einfachste und sicherste Verabreichung des Medikamentes bewährte sich die Sonden-Fütterungsmethode. Diese wurde unter Anlehnung an die von Marks (6) angegebene Schlundsondenfütterung bei Mäusen auf folgende Weise vorgenommen: Eine zu einer Rekordspritze passende Kanüle wird auf ungefähr $1^1/_4$ cm verkürzt und abgestumpft; auf diese wird ein ca.

5—6 cm langes Stück eines Ureterenkatheters geschoben. Dann wird die Flüssigkeit in die Spritze aufgezogen, die Sonde auf die Spritze gesetzt, die Luftblasen entfernt, die überschüssige Flüssigkeit ausgespritzt und die Sonde allmählich bis in den Magen vorgeschoben und langsam 0,1 ccm Chininlösung injiziert. Mehr zu verabreichen, ist nicht ratsam, da manche Vögel dann erbrechen. Nach der Injektion wartet man mit dem Zurückziehen der Sonde noch ca. 5—10 Sek. und geht, um Erbrechen zu verhüten, langsam heraus. Gleitmittel wurden nicht verwendet, indessen wird die Sonde vorher mit der Injektionsflüssigkeit befeuchtet. Man beobachtet den Vogel noch eine Weile, ob er die Flüssigkeit behält; erbricht er, so muß noch einmal gefüttert werden. Bei unseren zahlreichen Fütterungen sind niemals Verletzungen des Oesophagus oder des Magens beobachtet worden; alle gefütterten Vögel, die während der Versuchszeit aus irgend einem Grunde eingingen, wurden daraufhin besonders untersucht. Die Chininlösung wurde mit Aq. dest. jeden 2. Tag frisch angesetzt.

Der zu den Impfungen verwendete Proteosoma-Stamm, den wir Herrn Prof. Nöller vom Pathologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule, Berlin, verdanken, war stark virulent gemacht worden, um den Wert einer medikamentösen Beeinflussung durch stärkere Kontrastwirkung zu erhöhen. Hierzu hat sich die Ueberimpfung im frühen Infektionsstadium als besonders geeignet erwiesen. Sobald sich die ersten Parasiten im Blute zeigten, wurden von diesem Blute tags darauf ca. 0,1 ccm in 0,4 ccm Kochsalzlösung intramuskulär injiziert und dadurch schließlich erreicht, daß die Parasiten durchschnittlich am 4.—5. Tag im peripheren Blut erschienen und am 7. und 8. Tag mindestens 1—4 Parasiten in jedem Gesichtsfeld zu zählen waren. Ungefähr 45 Proz. der infizierten, unbehandelten Vögel gingen an der Krankheit zugrunde. Auf dieser Höhe wurde die Virulenz während der gesamten Versuchszeit gehalten. Der Stamm wies reichlich Gameten auf, obwohl er bereits mehr als 150mal fortgezüchtet war. Die Sporozoitenentwicklung in der Mücke (Culex pipiens) ging in normaler Weise vor sich.

Die Ausstrichpräparate wurden nach Romanowsky-Ziemann-Schilling gefärbt; bei negativen oder schwach infizierten Präparaten wurden mindestens 20 Gesichtsfelder durchmustert. Wir bezeichnen mit (+) = 1—3 Parasiten im Präparat.

+	=	**bis zu einem Parasiten in jedem 2. Gesichtsfeld.**
++	=	**„ „ „ „ „ „ Gesichtsfeld,**
+++	=	**2—4 „ „ „ „**
++++	=	**mehr als 4 „ „ „ „**

Zunächst mußte die kleinste entwicklungshemmende Dosis festgestellt werden. Hierzu wurden 8 Vögel mit 0,1 ccm einer Chininlösung fallender Konzentrationen behandelt (s. Tab. I). Alle Vögel wurden am 1. Tag $^1/_2$ Std. nach der 1. Fütterung mit der gleichen Menge parasitenhaltigen Blutes von gleicher Beschaffenheit infiziert, dazu 3 Kontrollvögel.

Aus der Tabelle geht hervor, daß 0,1 ccm einer Verdünnung von Chinin. mur. von 1:400 und darunter überhaupt keine Wirkung auf die Parasitenentwicklung ausübte; die Plasmodien erscheinen zu gleicher Zeit wie bei den Kontrollvögeln. In Verdünnungen von 1:100 und 1:200 ist deutlich eine Hemmung wahrzunehmen, die Parasiten erscheinen statt am 5. Tage am 8., 9. resp. 15. Tag, aber die zugeführte Chininmenge hat doch nicht genügt, um eine Entwicklung im peripheren

Tabelle I.

0,1 ccm Chininlösung	1:50	1:100	1:200	1:200	1:400	1:400	1:800	1:1600	Kontrollvögel		
Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	K_1	K_2	K_3
Tag 1	F	F	F	F	F	F	F	F	—	—	—
„ 2	F	F	F	F	F	F	F	F	—	—	—
„ 3	F	F	F	F	F	F	F	F	—	—	—
„ 4	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0	F +	+	—	—
„ 5	F 0	F 0	F 0	F 0	F(+)	F ++	F 0	F ++	+	(+)	+
„ 6	F 0	F 0	F	F	F 0	F ++	F +	F +++	++	+	+++
„ 7	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	++	+++
„ 8	F 0	F 0	F 0	F +	F 0	++++	+++	++++	—	—	† [1])
„ 9	F 0	F 0	F +	F ++	F 0	++++	—	—	†	+++	.
„ 10	—	—	++	F +++	F 0	+++	++	+++	.	+++	.
„ 11	F 0	F 0	F +++	F +++	0	—	—	—	.	.	.
„ 12	—	—	—	F —	—	+	(+)	+++	.	.	.
„ 13	F 0	F 0	++++	F ++++	0	+	+	++	.	.	.
„ 15	F 0	F +	++++	++++	0	0	0	++++	.	.	.
„ 16	0	+++	++++	++++	—	0	0	++++	.	.	.
„ 17	0	+++	—	—	—	—	—	—	.	.	.
„ 18	(+)	—	—	†	—	—	—	++++	.	.	.
„ 19	++	+++	++	—	—	0	0	—	.	.	.
„ 20	+	—	—	—	—	—	—	++++	.	.	.
„ 21	0	++	+	—	—	—	—	†	.	.	.
„ 22	—	—	(+)	—	—	—	—	.	.	.	.
„ 23	0	(+)	0	.	.	.	.	.	.	.	.
„ 25	0	0	0	—	—	—	—	.	.	.	.

F = Fütterung.

Blut überhaupt zu verhindern. Die Verdünnung von 1:50 hielt jedoch die Entwicklung sichtlich auf, und diese Konzentration wurde nun zu den weiteren Versuchen benutzt. Die Dosis ist ungefähr 3mal so hoch wie die von den Sergents verwendete und entspricht einer Menge von 5 g Chinin bei einem Menschen von 70 kg Gewicht. Irgendwelche Schädigungen der Tiere durch die Fütterung wurden nicht beobachtet. Die Dosis tolerata beträgt 6 mg; die Dosis prophylactica ist also 3mal so klein als die Dosis tolerata.

Versuch 1.

2 Kanarienvögel (53 und 54) wurden nach 2tägiger Fütterung infiziert und dann noch weitere 3 Tage gefüttert. 2 Kontrollvögel, die beide am 6. Tage +, am 8. Tage +++ sind. Bei den Versuchstieren erscheinen die Parasiten erst am 7. Tage, d. h. 4 Tage nach Aussetzen der Fütterung und werden überhaupt nicht +++.

Versuch 2.

2 Vögel (59, 60) werden gefüttert und 1/2 Std. später infiziert, der eine Vogel wird 3 Tage gefüttert und ist am 8. Tage +, d. h. 5 Tage nach Aussetzen der Fütterung, der 2. Vogel wird 5 Tage gefüttert und ist am 9. Tage, 4 Tage nach Aussetzen der Fütterung (+). 2 Kontrollvögel, die beide am 5. Tage + und am 7. Tage +++ sind.

Versuch 3.

2 Vögel (55, 56) werden 4 Tage gefüttert und dann infiziert und der eine 9 Tage weitergefüttert. Am 14. Tage nach der Infektion, 5 Tage nach Absetzen der Fütterung, +, am 15. Tage +++, am 32. Tage †. 2 Kontrollvögel, der eine interkurrent †, der 2. am 5. Tage +, am 7. Tage +++.

---

1) Wurde zum Weiterimpfen verwendet.

Versuch 4.

2 Vögel (71, 72) gefüttert und $^1/_2$ Std. später infiziert, der eine 11 Tage gefüttert, am 15. Tage, d. h. 4 Tage nach Absetzen der Fütterung (+), der andere 14 Tage gefüttert und am 18. Tage, wieder 4 Tage nach Absetzen der Fütterung (+). 2 Kontrollen, eine am 4. Tage +, am 7. Tage +++, der andere Vogel am 5. Tage (+), am 7. Tage +++.

Tabelle II.

Vogel Nr.	53	54	60	59	55	71	72	63	65	67	68
Tage vor d. Infektion 4					F						
3					F						
2	F	F			F						
1	F	F			F			F	F		
Tag 1	F I	F I	F I	F I	F I	F I	F I	F I	F I	F I	F I
„ 2	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
„ 3	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
„ 4	—	—	—	F 0	F	F ●	F	F 0	F 0	F 0 ●	F 0 ●
„ 5	0	0	0 ●	F 0 ●	F 0 ●	F 0	F 0 ●	F 0 ●	F 0 ●	F 0	F 0
„ 6	0 ●	0 ●	0	0	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0	—	—
„ 7	+	+	—	—	F 0	—	—	—	—	F 0	F 0
„ 8	+	+	+	0	—	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0
„ 9	+	++	+	(+)	F 0	F 0	F 0	F 0	F 0	—	—
„ 10	+	++	+++	(+)	—	—	—	—	—	F 0	F 0
„ 11	+	++	+++	(+)	0	F 0	F 0	F 0	F 0	—	—
„ 12	+	++	+++	(+)	0	F 0	0	F —	F —	F 0	F 0
„ 13	+	++	+++	(+)	0	—	—	F 0	F 0	—	—
„ 14	+	++	+++	(+)	+	F 0	0	—	—	F 0	F 0
„ 15	+	++	—	—	+++	0	(+)	F (+)	F 0	—	—
„ 16	+	+	+++	(+)	—	0	++	F 0	F 0	F (+)	F 0
„ 17	+	+	—	—	+++	0	+++	—	—	F 0	F 0
„ 18	+	+	+++	0	—	(+)	++	F 0	F 0	(+)	0
„ 19	—	—	—	—	++++	++	+++	—	—	F (+)	F 0
„ 20	+	0	—	—	—	+	++	F 0	F 0	—	—
„ 21	—	—	++	0	++++	0	+	—	—	F 0	F 0
„ 22	+	0	—	—	—	0	(+)	F 0	F 0	F 0	F 0
„ 23	—	—	++	0	++++	—	—	—	—	—	—
„ 24	0	0	—	—	++++	0	0	0	0	F 0	F 0
„ 25	—	—	+	0	++++	—	—	0	0	—	—
„ 26	0	0	—	—	—	0	0	(+)	(+)	F 0	F 0
„ 27	—	—	0	—	++++	—	—	+	(+)	—	—
„ 28	0	0	—	—	—	0	0	(+)	0	F 0	F 0
„ 29	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 30	—	—	—	—	++++	—	—	(+)	0	F 0	F 0
„ 31	—	—	0	—	—	—	—	(+)	0	F 0	F 0
„ 32	—	—	—	—	++++	—	—	—	—	—	—
„ 33	—	—	0	—	—	—	—	(+)	0	F 0	F 0
„ 34	—	—	—	—	†	—	—	—	—	—	—
„ 35	.	.	.	.	.	.	.	0	0	F 0	F 0
„ 36	.	.	.	.	.	.	.	—	—	F 0	F 0
„ 38	.	.	.	.	.	.	.	0	0	0	0
„ 40	.	.	.	.	.	.	.	0	0	0	0
„ 41	.	.	.	.	.	.	.	—	—	0	0
„ 42	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0
„ 44	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0
„ 45	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	(+)
„ 47	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	(+)
„ 49	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0
„ 51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	(+)	0
„ 54	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0

I = Infektion.
F = Fütterung mit 0,1 ccm Chin. mur. 1:50,0.
● = Beginn der Infektion bei den Kontrollen.

Versuch 5.

2 Vögel (63, 65) werden gefüttert, 1 Tag später infiziert und noch 22 Tage gefüttert. Beide am 26. Tage nach der Infektion, 4 Tage nach Aussetzen der Fütterung (+); beide machen eine sehr schwache Infektion durch. Bei Vogel 63 fanden sich am 14. Tage nach der Infektion vereinzelt Parasiten. 2 Kontrollvögel, beide am 5. Tage ++.

Versuch 6.

2 Vögel (67, 68) infiziert, $^1/_2$ Std. später gefüttert und die Fütterung 36 Tage fortgesetzt. Der eine am 51. Tage, 15 Tage nach Absetzen der Fütterung, (+), der andere am 45. Tage, 9 Tage nach Absetzen der Fütterung (+). Beide Vögel zeigen eine außerordentlich schwache Infektion. 2 Kontrollen, die eine interkurrent †, die andere am 4. Tage +, am 7. Tage +++. Vogel 67 wies zwischen dem 16. und 19. Tage vereinzelt Parasiten auf.

Vorstehende Tabelle (S. 510) soll die Befunde dieser Versuche veranschaulichen.

Aus den Protokollen und der Tabelle ist zu ersehen, daß abgesehen von 67 und 68, wo länger als 1 Monat gefüttert wurde, 4—5 Tage nach Aussetzen der Fütterung prompt die Infektion manifest wurde. Da die Inkubationszeit bei den Kontrollvögeln durchschnittlich 4—5 Tage betrug, so ist gewissermaßen durch jeden Tag peroraler Chininprophylaxe der Ausbruch der Infektion um 1 Tag hinausgeschoben worden. Bei längerer Fütterung wird die Inkubationszeit größer, im Fall 68 9 Tage, im Fall 67 sogar 15 Tage. Die Mortalität bei den prophylaktisch behandelten Vögeln ist erheblich geringer als bei den Kontrolltieren. Weiter ist bemerkenswert, daß nach vorausgegangener 3- resp. 5wöchentlicher Prophylaxe im peripheren Blut nur vorübergehend und sehr spärlich Parasiten anzutreffen waren, während bei 32 Kontrolltieren niemals eine Infektion beobachtet wurde, bei der nicht am 7.—8. Tage mindestens ein Parasit in jedem Gesichtsfeld gezählt werden konnte. Diese Befunde lassen den Schluß zu, daß die hier angewendete Prophylaxe nicht nur imstande ist, den Ausbruch der Krankheit zu verzögern, sondern auch die Ausbildung einer relativen Immunität begünstigt. Daß hier nicht etwa eine Virulenzabschwächung in Frage kommt, werden die späteren Versuche zeigen. Ob die Prophylaxe mehrere Tage vor der Infektion oder erst am Tag der Infektion begann, blieb ohne Unterschied in der Wirkung.

Bei Vogel 63 wurde während der Prophylaxe einmal ein vereinzeltes Auftreten von Parasiten festgestellt, ebenso konnte bei Vogel 67 mitten in der Behandlungszeit ein, wenn auch spärlicher, Parasitenbefund erhoben werden. Durch diese Beobachtung wurde die Frage aufgeworfen: ist dieser Befund ein zufälliger, oder kreisen trotz Chininprophylaxe regelmäßig Parasiten im peripheren Blut, selbst wenn man sie bei sorgfältiger Durchmusterung der Präparate nicht zu Gesicht bekommt. Zur Klärung dieser Frage wurden folgende Versuche angestellt.

Versuch 7.

Am letzten Fütterungstage — mikroskopisch keine Parasiten — wurde von Vogel 71 und 72 je ein normaler Vogel mit 0,1 ccm Blut geimpft. Nach 7 resp. 8 Tagen trat bei den beimpften Vögeln eine kräftige Infektion auf.

Versuch 8.

Am 36. Fütterungstage — mikroskopisch keine Parasiten — wurde von 67 und 68 je einem Vogel 0,1 ccm Blut injiziert. Am 10. Tage nach der Impfung treten

bei beiden beimpften Vögeln Plasmodien im Blut auf; die Infektion ist bei einem Vogel kräftig, bei dem anderen sehr stark.

Tabelle III.

Tag	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. Von Vogel 72 (11 Tage gefüttert) infiziert	I	0	0	0	.	++	+++	++++	.	++	+	.	+
2. Von Vogel 71 (14 Tage gefüttert) infiziert	I	0	.	0	0	.	+	++	+++	.	+++	.	+++
3. Von Vogel 67 (36 Tage gefüttert) infiziert	I	.	0	0	.	0	0	+	.	+++	.	++++	.
4. Von Vogel 68 (36 Tage gefüttert) infiziert	I	.	0	0	.	0	0	+	.	+	.	+	.

Tag	15	16	17	19	21	23	25	26	27	28	29
1. Von Vogel 72 (11 Tage gefüttert) infiziert	.	0	0	0	0	0	.	(+)	.	0	.
2. Von Vogel 71 (14 Tage gefüttert) infiziert	.	(+)	0	(+)	0	(+)	.	0	.	.	.
3. Von Vogel 67 36 Tage gefüttert) infiziert	++++	++++	.	+++	++++	+++	++	.	++	.	+++
4. Von Vogel 68 (36 Tage gefüttert) infiziert	++	++	.	+	0	0	0	.	0	.	0

I = Infektion.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß zu jeder Zeit auch im prophylaktisch behandelten Vogel Parasiten im peripheren Blut vorhanden sind. Von den unbehandelten Proteosoma-infizierten Vögeln ist ja bekannt, daß sie nach Abklingen der akuten Infektion noch wochen- und monatelang infektiös sein können. Ein ähnlicher Zustand scheint trotz Chininprophylaxe zu resultieren. Ob nun, wie Et. und Ed. Sergent behaupten, nach mehrmonatlicher Prophylaxe schließlich ein Zustand eintritt, bei dem die Vögel nicht mehr infektionstüchtig sind, haben wir nicht nachgeprüft, weil bei den großen Schwankungen im natürlichen Ablauf der Vogelmalaria, wenn überhaupt, nur auf Grund einer sehr großen Reihe von Versuchen Schlüsse zu ziehen wären.

Obwohl im Versuch 8 die Ausgangsinfektion (67, 68) sehr schwach war, und dadurch die Inkubationszeit auf 10 Tage anwuchs, traten doch bei den Impftieren kräftige Infektionen auf, was m. E. dafür spricht, daß eine längere Prophylaxe keine merkbare Virulenzabschwächung des Stammes herbeiführt, sondern vielmehr im Organismus der behandelten Tiere gewisse, bei der Malaria bisher noch nicht feststellbare Immunstoffe mobilisiert, zumindest deren Entwicklung nicht hindert, welche nach Aussetzen der Prophylaxe einen abortiven Verlauf der Infektion ermöglichen.

Es drängen sich bei der Uebersicht unserer Ergebnisse — unbeschadet einer wichtigen, unten erwähnten Einschränkung — soviel Parallelen mit der Chininprophylaxe bei der menschlichen Malaria auf, daß wir auf sie kurz eingehen wollen. Hier wie dort wird durch die Chininprophylaxe allein eine Infektion nicht verhindert, hier wie dort kann trotz lange zurückliegender Infektion nach Aussetzen der Prophylaxe ein akuter Anfall auftreten. Die Angabe Plehns (7), daß die Chininprophylaxe der Ausbildung einer relativen Immunität nicht im Wege steht, wird durch unsere Versuche gestützt.

Indessen liegen die Verhältnisse beim Menschen ungünstiger, als hier im Experiment und auch bei den Versuchen Janscos (8) insofern, als der Vogel nur einmal infiziert wurde, während in Malariagegenden die Möglichkeit und die Wahrscheinlichkeit häufiger Infektionen gegeben ist, und die Wirkung der Chininprophylaxe — abgesehen von äußeren Umständen, auf die Ziemann (9) hinweist — zweifellos von der Häufigkeit der Infektion abhängig ist. Es wird Aufgabe künftiger Versuche sein, den Verhältnissen bei der menschlichen Malaria analoge Experimente mit dem Proteosoma praecox anzustellen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß die Befunde bei den Versuchen 7 und 8 die Frage aufwerfen, ob nicht die Prophylaktiker in weit höherem Maße Parasitenträger sind, als es bisher auf Grundlage der mikroskopischen Blutuntersuchung angenommen wird.

Zusammenfassung.

1) 0,1 ccm einer 2proz. Lösung von Chinin. mur. pro die peroral prophylaktisch gegeben, waren imstande, eine manifeste Infektion des Kanarienvogels mit Proteosoma praecox um die Zeitdauer der Fütterung hintan zu halten, ohne der Ausbildung der bei dieser Krankheit zu beobachtenden natürlichen Immunität nachteilig zu sein. — 2) Je länger die Prophylaxe angewendet wird, desto leichter wird nach ihrem Aussetzen die Infektion. — 3) Auch wenn während der Prophylaxe mikroskopisch keine Parasiten im peripheren Blut zu finden waren, so kreisen dennoch, wie durch Verimpfungen festgestellt wurde, Parasiten im Blut.

Literatur.

1) Anschütz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. S. 278. — 2) Kopanaris, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 15. 1911. S. 586. — 3) Marks, L. H., Berl. klin. Wochenschr. 1914. S. 1886. — 4) Ehrlich, Dtsche. med. Wochenschr. 1891. Nr. 32 u. 44. — Ed. et Et. Sergent, Ann. Inst. Past. T. 32. 1918. p. 382; Bull. Soc. Path. Exot. T. 14. 1921. p. 72; Ann. Inst, Past, T. 29. 1921. p. 125; Arch. Inst. Past. Afrique du Nord. T. 1. 1921. p. 1. — 6) Marks, L. H., Arb. a. d. kgl. Inst. f. exp. Ther. 1908. H. 4. S, 29, — 7) Plehn, A., Dtsche. med. Wochenschr. 1902. Nr. 38. — Weiteres über Malaria, Immunität und Latenzperiode. Jena, Gust. Fischer, 1901. S. 67/68. — 8) Jansco, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1921. Beih. 2. — 9) Ziemann, Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 3. 1924. S. 464.

Nachdruck verboten.

Ueber eine Milbenerkrankung der Lunge bei Macacus rhesus.

[Aus dem Pathol. Institut der Universität Tübingen (Vorstand: Prof. Dr. A. Schmincke).]

Von Dr. H. Wurm.

Mit 6 Abbildungen im Text.

Milben als krankheitserregende Parasiten spielen beim Menschen eine geringe Rolle; sie beschränken sich hier in der Regel auf einen zwar lästigen, aber ungefährlichen Ektoparasitismus, wie die bekanntesten, die Haarbalgmilbe, die Krätzmilbe und die verschiedenen Zeckenarten, welch letztere ja als Krankheitserreger im Vergleich zu ihrer großen Bedeutung als Krankheitsüberträger eine ganz unbedeutende Rolle spielen. Von endoparasitären, beim Menschen vorkommenden Milben ist eigentlich nur Linguatula rhinaria zu nennen, die in der Nase und ihren Nebenhöhlen lebt, und deren Larven nach Verschlucken von eierhaltigem Sekret in mesenterialen Drüsen und in der Leber vorgefunden werden können, wohin sie vom Darm aus auf dem Lymph- und Blutweg gelangen. Unsicher ist die in einer recht beträchtlichen Literatur bearbeitete Frage eines fakultativen Parasitismus in Darm und Blase von Tyroglyphus- und Glyciphagus-Arten, die sonst in Mehl und anderen pflanzlichen Produkten leben. Bei den meisten der beobachteten Fälle konnten Verunreinigungen nicht ausgeschlossen werden, es wurden vielfach auch nur tote Milben gefunden. Von den wenigen einwandfreien Fällen möchte ich nur einen von Trouessart beschriebenen anführen, bei dem in einem Punktat aus einem Hodenabszeß lebende Tyroglyphiden nachgewiesen werden konnten.

So gering die Zahl der parasitierenden Milben beim Menschen ist, so groß ist sie in der Tierwelt. Hier auf Einzelheiten einzugehen, würde zu weit führen, ich möchte mich nur auf die parasitären Milben des Atmungsapparates beschränken. Da sind zu erwähnen Acarapis Woodii in den Tracheen der Bienen, verschiedene Cytoleichus-Arten in den Luftwegen und Luftsäcken der Vögel und endlich die zur Familie der Gamasiden gehörigen Halarachne und Pneumonyssus, von denen die ersteren in Nase und Bronchialbaum von Seehunden und Walen, letztere in Bronchien und Lungen von altweltlichen Affen vorkommen.

Ueber Pneumonyssus-Erkrankungen bei Affen sind 4 Veröffentlichungen bekannt, die uns hier besonders interessieren, da es sich bei den zu berichtenden Fällen ebenfalls um eine Pneumonyssus-Erkrankung handelt. Die erste Beschreibung stammt von de Haan und Grijns, die bei einem Sumatraaffen (Cynocephalus) in der Lunge zahlreiche, aus einer fibrösen Kapsel und einer zentralen Detritusmasse bestehende Knötchen fanden, aus denen sich Milben herauspräparieren ließen, die dann Banks als neue Spezies eines neuen Genus Pneumonyssus, als Pn. simicola beschrieb. 2 weitere Veröffentlichungen

stammen von Newstead und Todd und von Newstead allein; in der einen wird eine neue Spezies Pn. Duttoni bei einem afrikanischen Affen (Cercopithecus Schmidtii) beschrieben, deren Exemplare sich in Trachea und Bronchien fanden, ohne andere Erscheinungen als eine Bronchitis verursacht zu haben; in der anderen handelt es sich wieder um eine neue Spezies Pn. Griffithi in der Lunge von Macacus rhesus. Die Milben lebten hier in kleinen Kavernen von 2—5 mm Durchmesser, eingebettet in Detritus und in Gemeinschaft mit säurefesten Bazillen, die sich im Tierversuch als nichtpathogen erwiesen. Die Kavernen kommunizierten mit kleinen Bronchien. Endlich beobachteten Landois und Hoepke ebenfalls bei Macacus rhesus Knötchen in der Lunge, aus denen sich Milben isolieren ließen, welche Hoepke als Pneumotuber macaci beschrieb, die aber wohl auch zu Pneumonyssus gehören. Bei diesem Fall wird betont, daß die aus Detritus bestehenden Herdchen nicht mit dem Bronchialsystem in Zusammenhang standen, sondern unter Zerstörung des Parenchyms zur Entwicklung gekommen waren.

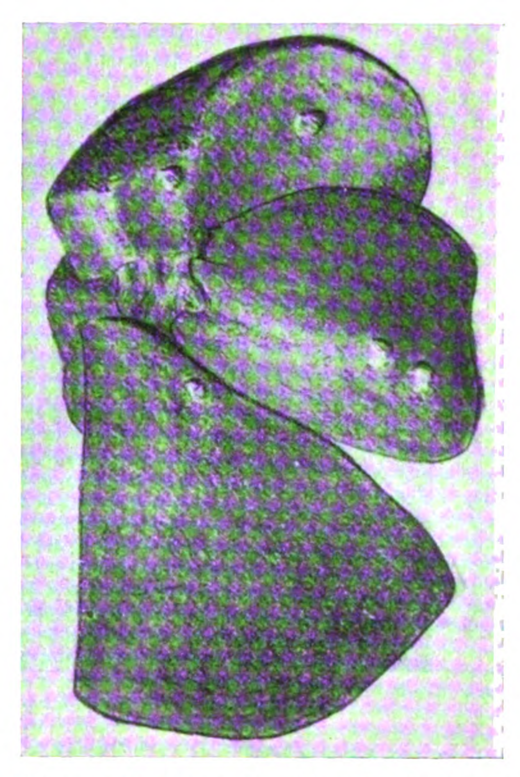


Fig. 1. Affenlunge mit subpleuralen Knötchen.

An diese in der Literatur vorhandenen Beobachtungen reihen sich nun unsere eigenen, die an 4 Exemplaren von Macacus rhesus gemacht wurden. Die Affen waren uns vom Physiologischen Institut nach Tötung im Versuch zur Sektion überlassen worden. Klinisch hatten chronischer Husten und allgemeine Krankheitssymptome derart bestanden, daß an Lungentuberkulose gedacht wurde.

Die Sektion der Tiere ergab in allen Fällen eine isolierte Erkrankung der Lungen, die in 2 Fällen noch mit einer damit nicht in Zusammenhang stehenden diphtherischen Colitis vergesellschaftet war.

Die Lungen zeigten makroskopisch folgende Veränderungen: Es fanden sich meist in allen Lappen, am häufigsten in den paravertebralen Partien der Unterlappen vereinzelte ca. 2—3 mm große, durch die Pleura weißlich hindurchschimmernde Knötchen von kugeliger Prominenz, z. T. mit zentraler Eindellung. In den interlobären Inzisuren liegende Knötchen verrieten sich durch eine fibröse Pleuritis, die um sie herum zur Entwicklung gekommen war und zu Verwachsung der angrenzenden Pleuraflächen geführt hatte (Abb. 1). Auf dem Schnitt durch das Organ erwiesen sich die von außen als Knötchen impo-

nierenden Gebilde als kleine Hohlräume, die höchstens Hanfkorngröße erreichten. Ihre Wandung war z. T. glatt, anscheinend schleimhäutig, z. T. mit einem weißlichen, krümeligen Belag bedeckt. Neben diesen subpleuralen Hohlräumen fanden sich aber auch solche in den zentralen Partien des Lungengewebes, mitunter ganz in der Nähe des Hilus. An einzelnen Kavernchen ließ sich schon makroskopisch eine Kommunikation mit kleinen Bronchien nachweisen, deren Wandung verdickt und mit weißlichem Sekret bedeckt erschien.

Das Lungengewebe um die Kavernen herum wies makroskopisch keine Zeichen einer infiltrativen Veränderung auf. Dagegen konnte man nicht selten an den größeren Bronchien eine auffallende Verdickung der Wand über größere Strecken ihres Verlaufs hin bemerken, dabei schien auch das Bronchiallumen über die Norm weit.

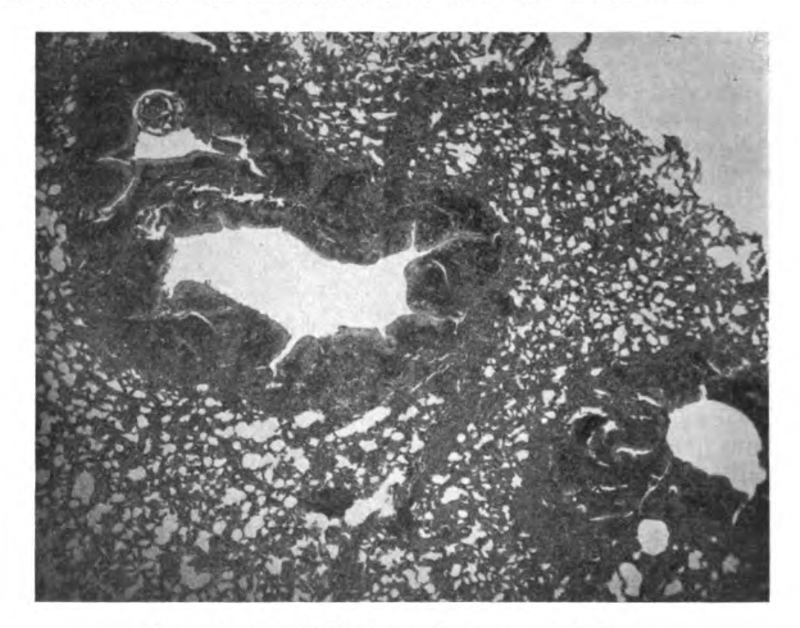


Fig. 2. Bronchiektatische Kaverne mit Milbe.

Es gelang nun nicht nur aus den kleinen Kavernen, sondern in einem Fall auch aus einem größeren Bronchus, der die eben erwähnte fibröse Wandverdickung aufwies, kleine ca. 0,75 mm lange, walzenförmige Gebilde zu isolieren, die sich mikroskopisch durch das Vorhandensein von 4 Beinpaaren und durch die fehlende Gliederung von Capitulum, Thorax und Abdomen als Milben erwiesen. In den glattwandigen Kavernen waren die Milben oft schon makroskopisch als in Gruppen zu drei und vier an der Wand haftend zu erkennen, während in den detritushaltigen Hohlräumen die Tiere erst von dem anhaftenden krümeligen Material befreit werden mußten.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Kavernen fand sich ein vielfach verzweigtes Lumen, das zum Teil direkten Zusammenhang mit den Bronchioli der Nachbarschaft zeigte. Die Hohlräume sind also als bronchiektatische Kavernen aufzufassen (Fig. 2). Die Wandung war oberflächlich größtenteils ausgekleidet mit einem platten einschichtigen

Epithel, das in den Buchten höher wurde und kubische Gestalt annahm. Stellenweise fand sich Desquamation des Epithels und, besonders in den Buchten der Wandung, eine starke Epithelwucherung, die teilweise unter Bildung solider Epithelzellkomplexe zu Verlegung der einmündenden Bronchioli geführt hat. Das Epithel saß einer Membrana propria auf, deren kernarmes Bindegewebe hyalin verquollen und verbreitert erschien und eine spärliche, vorwiegend lymphozytäre Infiltration aufwies. Außerdem sah man hier vereinzelte große, blaßkernige Zellen, deren Protoplasma ein körniges, braunes, keine Eisenreaktion gebendes Pigment enthielt. Von elastischen Fasern ließen sich in der Membrana propria nur kleine Bruchstücke nachweisen. Die nach außen gelegene Wandschicht war dicht entzündlich zellig-lymphozytär infiltriert, zwischen den Rundzellen lagen einzelne und zu größeren Gruppen angehäufte großzellige, histiozytäre Elemente, die mit dem eben erwähnten Pigment massig beladen waren. An einigen Stellen hoben sich aus dem mit Rundzellen infiltrierten Gewebe helle, knötchenartige Bildungen, die aus großen histiozytären, pigmentfreien Zellen aufgebaut waren, hervor, um sie herum war die Lymphozytenansammlung wallartig verdichtet. Riesenzellen fanden sich nicht. Die stark blutgefüllten Gefäße waren mit Rundzellenmänteln umgeben und erstreckten sich bis zur Membrana propria.

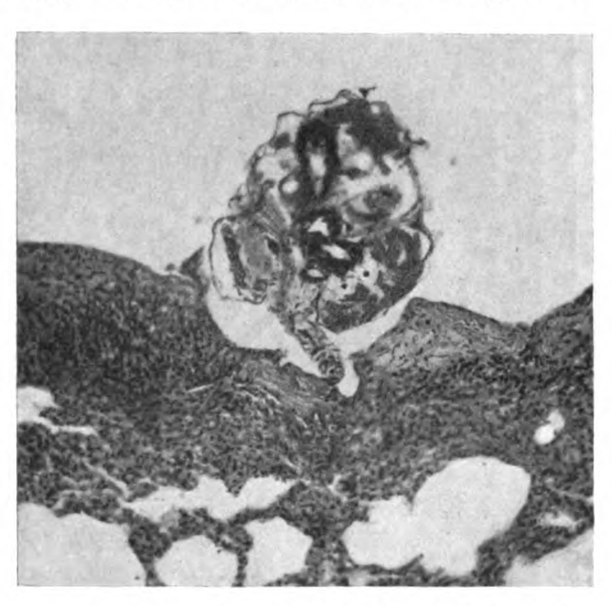


Fig. 3. Läsion der Bronchialschleimhaut durch eine Milbe.

In mehreren Kavernen waren Parasiten vom Schnitt getroffen, sie lagen in der Nähe der Wand und ließen deutlich erkennen, auf welche Weise sie die bronchiale Schleimhaut lädierten. Fig. 3 zeigt, wie ein Bein der Milbe eine tiefe Einkerbung in der Schleimhaut verursacht und wie auch die angrenzenden Wandpartien durch Abdruck des Milbenkörpers deformiert sind. Häufig fand sich in der Umgebung des Parasiten das schon erwähnte braune Pigment frei im Lumen liegend, es entspricht seiner morphologischen Beschaffenheit nach dem Pigment, das in den Malpighischen Gefäßen der Milben enthalten ist und als Exkret durch die Analöffnung entleert wird. Gerade in den dem Parasiten benachbarten Wandpartien war die Phagozytose dieses Milbenkots durch histiozytäre Zellen besonders stark und dementsprechend auch die lymphozytäre Infiltration dicht (Fig. 4). Es ist wohl anzunehmen, daß der Kot chemisch reizende Stoffe enthält, auf

welche die starke histiozytär-fibroplastische Reaktion der Schleimhaut zurückzuführen ist.

Säurefeste Bazillen wie in dem Newsteadschen Fall von Pn. Griffithi konnten im Ausstrich des Kaverneninhalts nicht gefunden werden.

Die nicht, wie besprochen, bronchiektatisch veränderten großen Bronchien zeigten mikroskopisch Füllung des Lumens mit Schleim, der von zahlreichen rundkernigen Entzündungszellen und Epithelien durchsetzt war, vereinzelt fand sich auch Milbenkot in extra- und intrazellulärer Form. Das Epithel war hochzylindrisch, die Zylinderzellen entbehrten großenteils der Flimmern und waren in Becherzellen mit starker Schleimfüllung umgewandelt. Es fiel eine reichliche Epitheldesquamation auf. Die bindegewebige Schleimhaut war in geringerem Grade als in den

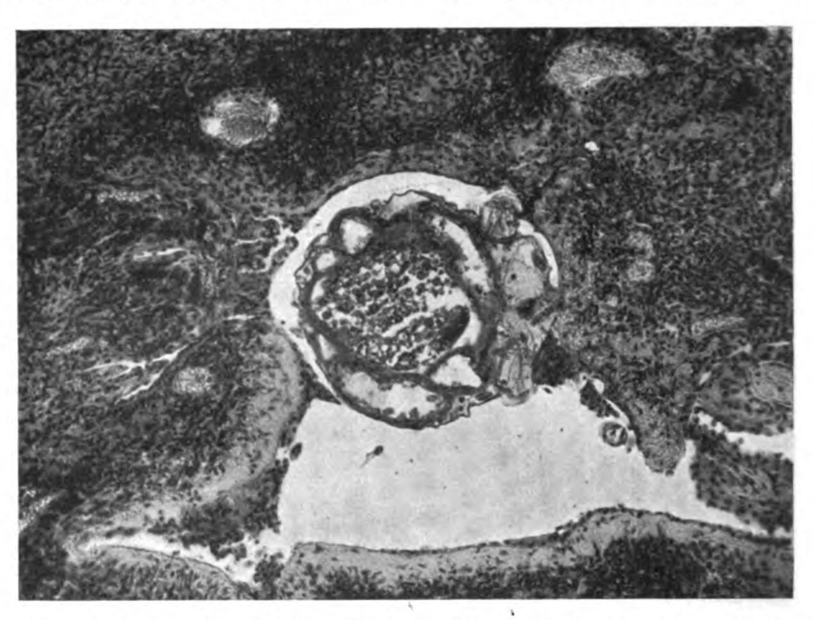


Fig. 4. Chronisch granulierende Bronchitis und Peribronchitis mit Epithelmetaplasie in der Umgebung einer Milbe.

Kavernenwandungen hyalin verdickt und zeigte mäßig starke Rundzelleninfiltration mit vereinzelten kotpigmentführenden, großen Zellen.

Das den veränderten Bronchien benachbarte Lungengewebe war nicht in Mitleidenschaft gezogen. In der Umgebung der Kavernen fand sich eine geringe Epitheldesquamation in einigen Alveolengruppen ohne eigentliche Exsudatbildung. Die Pleura über den subpleural gelegenen Kavernen war geringgradig fibrös verdickt, Fibrinausschwitzungen fehlten.

Zusammengefaßt ist der anatomische Befund entsprechend der fortgesetzten mechanischen Läsion der Schleimhaut und der chemisch-toxischen Wirkung der Stoffwechselprodukte der Milben auf das Gewebe der einer chronischen, hypertrophischen Bronchitis unter Ausbildung multipler, vorwiegend subpleural gelegener bronchiektatischer Kavernen mit Metaplasie des zylindrischen Epithels in Plattenepithel

und chronisch granulierender Peribronchitis infolge der Resorption des Milbenkots durch histiozytäre Elemente ins Bindegewebe.

Es kann angenommen werden, daß die allgemeinen Krankheitssymptome der Affen (Abnahme der Freßlust, Abmagerung) auf eine Allgemeinschädigung durch die resorbierten Stoffwechselprodukte der Parasiten zurückzuführen sind.

Die hier besprochenen Fälle stimmen so in ihrem pathologisch-anatomischen Verhalten mit dem Newsteadschen Fall von Pn. Griffithi, bei dem die Milben ebenfalls in bronchiektatischen Kavernen gefunden wurden, überein. Bei dem Fall von Pn. Duttoni desselben Autors wurden nur bronchitische Veränderungen gesehen. Bei der von de Haan und Grijns beschriebenen Lungenerkrankung, verursacht durch Pn. simicola, waren abgekapselte Zystchen vorhanden, deren mutmaßliche Genese aus der kurzen Mitteilung nicht hervorgeht. In dem Fall von Landois und Hoepke lebte der von diesen

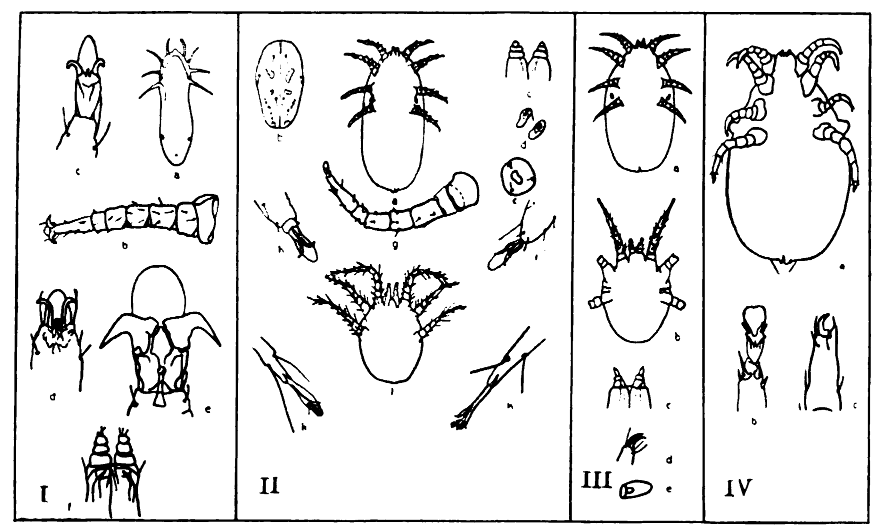


Fig. 5, I. Pneumonyssus Duttoni: *a* Erwachsenes Weibchen, *b* Bein III 50fach, *c* Endglied von Bein III 200fach, *d* Endglied von Bein III, 200fach, *e* Endglied von Bein III, 200fach, *f* Capitulum; (nach Newstead). II Pneumonyssus Griffithi: *a* Erwachsenes Weibchen, 20fach, *b* Dorsalschild, 30fach, *c* Palpi, 200fach, *d* Stigmalplatten, 200fach, *e* Analplatte, 200fach, *f* Beinendglied 200fach, *g* Bein IV, 50fach, *h* Beinendglied, 200fach, *i* Larve, 40fach, *kk* Beinendglieder der Larve, 200fach; (nach Newstead und Todd). III Pneumonyssus simicola: *a* Erwachsenes Weibchen, *b* Larve, *c* Palpi, *d* Beinendglied, *e* Stimalplatte; (nach Banks, Angabe der Vergrößerung fehlt). IV Pneumotuber macaci: *a* Erwachsenes Tier, *b* Beinendglied IV? *c* Bein ohne genaue Angabe (nach Landois und Hoepke, Angabe der Vergrößerung fehlt).

Autoren beschriebene Pneumotuber macaci in durch Zerstörung pneumonisch infiltrierten Lungengewebes entstandenen Kavernen.

Zum Schluß sei noch die genauere Beschreibung der gefundenen Milben gegeben. Ich verdanke hier Herrn Prof. Blochmann und Herrn Prof. Gmelin gute Ratschläge.

Wie in 3 von den 4 Fällen der Literatur wurden nur weibliche Tiere gefunden, außerdem zwei Larven und ein freiligender Embryo. Die Größe der geschlechtsreifen Weibchen ist durchschnittlich 0,75 mm

(Pn. Griff. 0,75 mm, Pn. Dutt. 0,5—1 mm, Pn. sim. 0,8 mm, Pn. mac. 0,6 mm). Die von uns gefundenen Milben unterscheiden sich im allgemeinen Bau nur von Pn. Duttoni, der einen langgestreckten, in der Mitte des Abdomens leicht eingeschnürten Körper besitzt. Die genaue Bestimmung der Milbe stößt auf gewisse Schwierigkeiten, da die in der Literatur beschriebenen Spezies von Pneumonyssus zum Teil infolge von Mangel an Material nicht sehr eingehend gekennzeichnet sind. Es kommt dabei in der Hauptsache an auf die Beschaffenheit des Kapitulums mit den Palpi und Mandibeln, der Extremitätenendglieder und der Chitinverdickungen, wie sie als Dorsal- und Sternalschilder

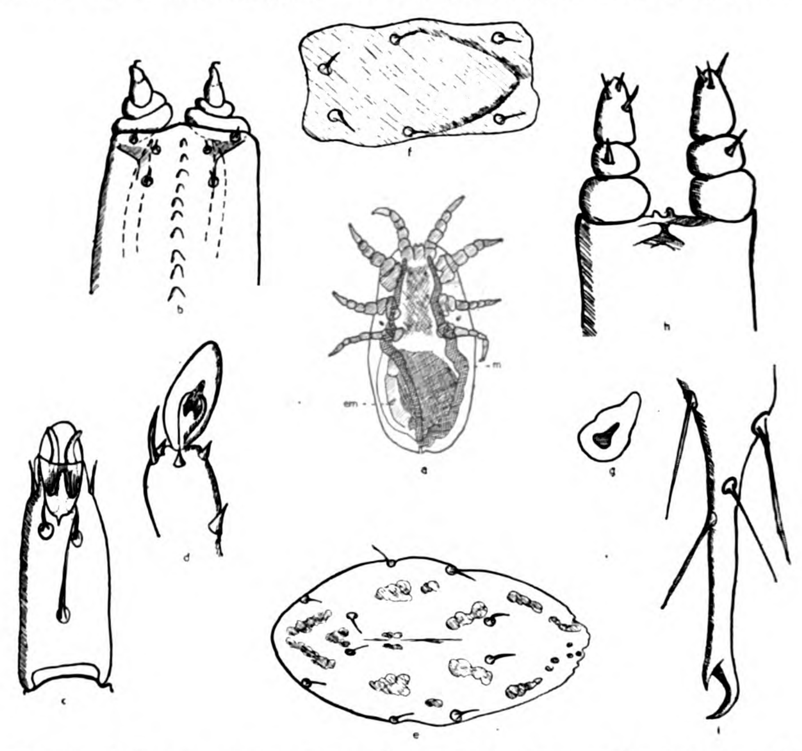


Fig. 6. Milbe der eigenen Beschreibung: *a* Geschlechtsreifes Weibchen, 27fach, mit Malpighischen Gefäßen (*m*) und Embryo (*em*), *b* Capitulum, 300fach, *c* Beinendglied III 300fach, *d* Beinendglied IV, 300fach, *e* Dorsalschild, 50fach, *f* Brustschild, 50fach, *g* Stigmalplatte, 300fach, *h* Capitulum der Larve, 300fach, *i* Beinendglied IV der Larve, 300fach.

und als Platten um die Stigmen und den Anus bei einem Teil der Gamasiden beobachtet werden.

Die in der Literatur beschriebenen Spezies von Pneumonyssus unterscheiden sich von der gefundenen Milbe folgendermaßen:

Pn. Duttoni durch langgestreckten Körper, 2 Paar Stigmen, andere Extremitätenendglieder. — Pn. Griffithi durch andere Stellung der Stigmalplatten, andere Palpi und Mandibeln des erwachsenen Tieres und der Larve. Andere Extremitätenendglieder der Larve. Anderes Dorsalskutum. — Pn. simicola durch Fehlen von Schildern, andere Mandibeln, andere Larvenpalpi, andere Extremitätenendglieder. —

Pneumotuber macaci durch andere Größenverhältnisse, Fehlen von Schildern, andere Klauen (s. Fig. 5 u. 6).

Beschreibung der Milbe (s. Fig. 6).

Größe des erwachsenen Weibchens ca. 0,75 mm. Capitulum wenig hervortretend. Palpi dreigliedrig. Endglied mit einem langen, nach unten gekrümmten Taster versehen. Mandibeln in das Capitulum zurückgezogen, griffelförmig, mit der Spitze eben bis zur Basis des Palpusgrundgliedes reichend. Beine 6-gliedrig. Die ersten drei Paar an den Endgliedern mit je zwei gleich großen, gekrümmten Klauen und einem wenig längeren Haftlappen, das letzte Beinendglied mit einem größeren Haftlappen und verkümmerten Klauen bewehrt. Dorsalskutum apikal scharf abgegrenzt, analwärts unscharf, besetzt mit 5 Paar Haaren. Sternalschild dünner als Dorsalschild, weniger scharf abgegrenzt, mit drei Paar Haaren besetzt. Stigmen zwischen 3. und 4. Beinpaar, Stigmalplatte in Form einer phrygischen Mütze, Basis medial-kaudal, Spitze lateral-apikal, Stigma an der Basis der Platte. Schmale elliptisch geformte Analplatte. Die deutlich sichtbaren Malpighischen Gefäße ziehen beiderseits bis zur Koxe des ersten Beins nach vorne. Larve: Palpi dreigliedrig, lang, mit kurzen, starken Haaren besetzt, ohne Taster. Extremitätenendglieder mit einer starken und einer gegenüberstehenden schwachen und kürzeren Klaue bewehrt, kein Haftlappen.

Fasse ich zusammen, so kann man trotz großer Vorsicht immerhin sagen, daß die von uns bei Macasus rhesus gefundene Milbe mit den beschriebenen 4 Spezies von Pneumonyssus zwar aufs nächste verwandt ist, aber trotzdem mit keiner von diesen identisch ist und also eine neue Spezies von Pneumonyssus darstellen dürfte.

Zur Frage des Infektionsweges lassen sich nur Vermutungen äußern. Am wahrscheinlichsten ist der Eintritt der Infektion durch die oberen Luftwege, und zwar durch Kontakt von Tier zu Tier, indem ältere frei im Bronchialbaum lebende Embryonen durch Hustenstöße verschleppt werden, was ja bei der bestehenden Bronchitis ohne weiteres angenommen werden kann.

Literatur.

Banks, N., The acarina or mites. (U.S.A. Dep. Agricult. Rep. 108. 1915.) de Haan und Grijns, Eine neue endoparasitäre Acaride. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30.) — Landois u. Hoepke. Eine endoparasitäre Milbe in der Lunge von Macacus rhesus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73.) — Newstead, On a new Dermanyssid acarid. (Liv. Sc. Trop. Med. Mem. Vol. 18.) [Rep. of the exped. to the Congo.] — Newstead and Todd, On a new Dermanyssid acarid. (Daselbst.)

Weitere Beiträge zur infektiösen Anämie der Ratte.

[Aus der II. med. Univ. Klinik in Wien (Vorstand Prof. Dr. N. Ortner).]

Von Dr. **Ernst Lauda.**

In früheren Mitteilungen[1]) konnte dargetan werden, daß weiße Ratten nach Entmilzung relativ häufig schwere Krankheitserscheinungen zeigen, die vornehmlich durch Freßunlust, Mattigkeit, rapiden Gewichtsverlust, abnorme Blässe und gelegentlich durch Hämoglobinurie (und auch Hämaturie) charakterisiert sind. Die Tiere erkranken meist zwischen dem 3. und 10. Tage nach der Splenektomie und gehen innerhalb weniger Tage, oft schon am ersten Tag der Krankheit, zugrunde. Wenige Tiere erholen sich und überleben. Die erkrankten Ratten sind anämisch; eine Analyse des Blutes ergibt, daß die Zahl der Erythrozyten, die normaler Weise zwischen 6 und 9 Millionen beträgt, auf 2 bis 1 Million und darunter abfällt, und daß das Blutbild durch eine Anisozytose der Erythrozyten mit Mikro- und Megalozytose, durch eine starke Ploychromasie, durch Ausschwemmung von Normoblasten, seltener durch das Auftreten von Jollykörperchen morphologisch gekennzeichnet ist. Der Färbeindex beträgt 1 oder etwas über 1. Gleichzeitig findet sich eine absolute und relative Neutrophilie ohne Ausschwemmung von pathologischen Granulozytenformen und eine relative und absolute Mononukleose; die Monozyten zeigen meist Degenerationszeichen; etwa die Hälfte der Tiere weist Erythrophagozytose im strömenden Blut auf, die Blutplättchen sind meist vermehrt. Es handelt sich bei dieser Blutarmut um eine hämolytische Anämie, wie dies die häufig zu beobachtende Hämoglobinämie und Hämoglobinurie, vielleicht auch der gelegentlich auftretende Ikterus, ferner der rapide Erythrozytensturz und die histologischen Organveränderungen beweisen, die vor allem durch eine exzessive Erythrophagozytose im retikulo-endothelialen System ausgezeichnet sind. Hinsichtlich der Einzelheiten des Krankheitsbildes sei auf die früheren Publikationen verwiesen.

Es konnte nun seinerzeit nachgewiesen werden, daß diese Rattenkrankheit, die weder in der Human-, noch in der Veterinärmedizin insofern ihresgleichen hat, da derartige Zustände nach Splenektomie weder beim Menschen noch beim Tier bekannt sind, als Folge einer Infektion mit einem endogenen Rattenvirus aufzufassen sind. Einige Tiere beherbergen das Virus und dieses gelangt erst dann zur Wirksamkeit und erweist sich erst dann krankmachend, wenn das Tier entmilzt wird, wenn die Schutzkräfte der Milz, welche normalerweise das Haften des Virus verhindern, wegfallen. Der Nachweis, daß es sich bei der in Rede stehenden Rattenkrankheit tatsächlich um eine Infektion handelt, gelang in einwandfreier Weise in Passageversuchen, deren Beweiskraft durch entsprechende Kontrollen gestützt wurde. Die Serienübertragung gelang leicht auf milzlose Tiere, auf milzhaltige nur gelegentlich unter besonderen Versuchsbedingungen. Ueberstehen der Krankheit bedingt Immunität gegen eine Reinfektion.

1) E. Lauda, Klin. Wochenschr. Bd. 4. Nr. 33; Virch. Arch. Bd. 258. H. 3. 1925.

Im folgenden sollen einige Nachträge zum Problem dieser Rattenanämie erbracht werden.

I. Die Uebertragung der Rattenanämie mit Blut.

Die Passageversuche wurden seinerzeit in der Art durchgeführt, daß Leberbrei einer unter Allgemeinerscheinungen zugrunde gegangenen Ratte einem zweiten Tier, welches vor längerer Zeit entmilzt worden und gesund geblieben war, subkutan, intravenös oder intraperitoneal verimpft wurde. Schon seinerzeit wurde der Meinung Ausdruck verliehen, daß es sich bei dieser infektiösen Anämie um eine Allgemeininfektion handle, und daß es daher auch gelingen müsse, die Passage durch Verimpfen von Blut, Harn und Extrakten anderer Organe fortzuführen. Als Beleg für die Richtigkeit einer derartigen Anschauung soll ein Versuch mitgeteilt werden, welcher die Uebertragbarkeit der Krankheit mit Blut beweist.

Der Versuch nimmt seinen Ausgang von R. 119. Sie wird am 30. IV. 25, an welchem im Schwanzvenenblut 8 000 000 Erythrozyten gezählt werden, entmilzt. 5. V. E. (Erythrozytenzahl) 6 250 000. 6. V. E. 3 900 000; 8. V. Das Tier ist stark abgemagert, der Harn ist leicht hämorrhagisch verfärbt (Hämoglobinurie). E. 1 000 000. Das Tier wird in relativ gutem Zustande entblutet. Die histologische Untersuchung der Organe und das Studium der Blutmorphologie im Ausstrich ergeben die für Rattenanämie charakteristischen Kennzeichen.

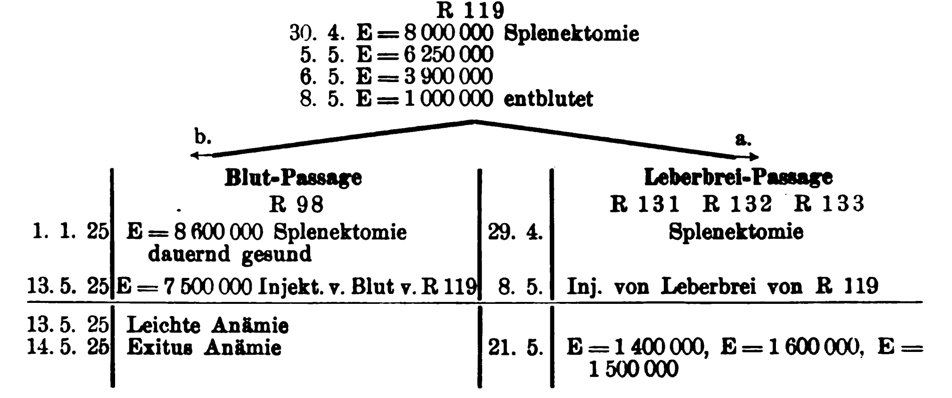
Am gleichen Tage, also am 8. V. 25, werden zwei Passagereihen angelegt, die eine mit Leberbrei, die andere mit Blut:

a) Der in der üblichen Weise hergestellte Leberbrei wird subkutan auf die Ratten 131, 132 und 133 verimpft, Tiere, welche am 29. 4. 25 entmilzt worden und in der Folge gesund geblieben waren. Nach der Impfung erkranken alle drei Tiere am gleichen Tage, und zwar am 21. V. unter den Zeichen der perniziösen Anämie (E: R. 131 1 400 000; R. 132 1 600 000; R. 133 1 500 000).

b) 1,5 ccm koaguliertes Blut wird in der Reibschale unter aseptischen Kautelen zerzupft, verrieben und in 3 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und hierauf zum Teil intraperitoneal, zum Teil intravenös auf R. 98 verimpft. Dieses Tier war am 1. I. 25, also vor über 5 Monaten entmilzt worden, die Erythrozytenzahl, die dauernd kontrolliert wurde, hatte nur geringgradige Schwankungen erkennen lassen und betrug am 8. V. 25 7 500 000. Dieses geringe Absinken der Zahl ist auf die häufigen Blutentnahmen zur Blutuntersuchung zu beziehen, wie seinerzeit ausgeführt wurde.

Am 13. V. 25, also 5 Tage nach der Injektion von Blut von R. 119, ist das Tier auffallend ruhig und sieht etwas anämisch aus. An diesem Tage wurde der Blutbefund nicht erhoben. Am folgenden Tag wird das Tier mit dem Zeichen der schweren Anämie tot aufgefunden. Das Blut ist dünnflüssig; es besteht schwere Hämoglobinurie. Schwanzvenenblutausstrich: Starke Polychromasie, Anisozytose mit Mikro- und Megalozytose, Normoblasten, verhältnismäßig geringgradige relative und absolute Neutrophilie, Monozytose. Obduktion: Große gelblich verfärbte, in ihrer Konsistenz wesentlich herabgesetzte Leber. Diffus dunkelrot hämorrhagisch gefärbte Nieren, Blasenharn hämoglobinurisch. Histologische Untersuchung der Organe: Leber: Erythrophagozytose der Kupferschen Sternzellen, Abstoßung derselben in die Gefäß-

lumina; diffuse Verfettung des Leberzellenparenchyms, stellenweise ausgedehnte Nekrosen. Niere: Die seinerzeit beschriebenen Veränderungen entsprechend der Hämoglobinurie. Lymphdrüsen: Erythrophagozytose in den retikulo-endothelialen Zellen. Eisenfärbung deckt in allen Organen eine Siderose auf. Die folgende Tabelle soll den obigen Versuch erläutern:



R 119
30. 4. E = 8 000 000 **Splenektomie**
5. 5. E = 6 250 000
6. 5. E = 3 900 000
8. 5. E = 1 000 000 **entblutet**

b. ← → a.

	Blut-Passage R 98		**Leberbrei-Passage** R 131 R 132 R 133
1. 1. 25	E = 8 600 000 **Splenektomie** **dauernd gesund**	29. 4.	**Splenektomie**
13. 5. 25	E = 7 500 000 **Injekt. v. Blut v. R 119**	8. 5.	**Inj. von Leberbrei von R 119**
13. 5. 25	**Leichte Anämie**	21. 5.	E = 1 400 000, E = 1 600 000, E = 1 500 000
14. 5. 25	**Exitus Anämie**		

Während die Versuchsreihe a eine Wiederholung schon seinerzeit mitgeteilter Experimente darstellt und beweist, daß das Virus der Rattenanämie im Leberbrei des Ausgangstieres R. 119 nachweisbar ist — es verdient hervorgehoben zu werden, daß alle drei Passagetiere am gleichen Tag splenektomiert worden waren, am gleichen Tage geimpft wurden und am gleichen Tag erkrankten —, zeigt die Versuchsreihe b, daß eine Ratte, die die Entmilzung, wie die fortlaufende Blutkontrolle gezeigt hatte, über 5 Monate ohne Schaden überlebte, nach Injektion von Blut einer unter den Symptomen der Rattenanämie zugrunde gegangenen Ratte unter den Zeichen dieser Anämie einging. Daß hier eine gelungene Tierpassage vorliegt, erhellt, abgesehen von der Gleichartigkeit des Experimentes mit den seinerzeit ausführlich diskutierten Uebertragungen mit Leberbrei, einerseits aus der annähernd gleichen Inkubation von 6—8 Tagen beim Ausgangstier und beim Impfling, und andererseits aus der Gleichheit der in der Passage erzeugten Krankheitserscheinungen, dem Blutbefund und dem histologischen Befund der Organe. Aus dem Versuch geht wohl mit Sicherheit hervor, daß die Tierpassage mit Blut eines erkrankten Tieres gelingt, daß die infektiöse Anämie der Ratte demnach als eine Allgemeininfektion aufgefaßt werden muß, wie schon seinerzeit angenommen wurde.

II. Die Stallinfektion.

Auf Grund der Beobachtung, daß splenektomierte Ratten, welche im gleichen Käfig gehalten werden, in dem einen Fall ausnahmslos nach annähernd gleicher Zeit erkranken, in einem anderen Fall aber gesund bleiben, und auf Grund der Tatsache, daß die Inkubationszeiten, bzw. die Zeitspannen, welche zwischen Splenektomie und Erkrankung liegen, gelegentlich außerordentlich groß sein können (30 Tage), woraus mit Wahrscheinlichkeit geschlossen werden konnte, daß diese Tiere sich erst später infizieren, wurde seinerzeit die Möglichkeit der Stallinfektion

diskutiert. Die Richtigkeit dieser Vermutung konnte experimentell gestützt werden:

Ratte 129 und 130 werden am 24. 4. 25 entmilzt und bleiben im gleichen Käfig. Die Blutuntersuchung deckt in der nächsten Zeit keine pathologischen Zustände auf. Am 8. 5. 25 wird R. 129 in einen anderen Käfig transferiert, in welchem R. 119 eben unter schweren Erscheinungen erkrankt war, während R. 130 im gleichen Käfig verbleibt. Am 22. 5. 25 erkrankt nun das der supponierten Stallinfektion ausgesetzte Tier R. 129 unter den Zeichen der Anämie (E. 2000000, während R. 130 keine Veränderungen des Blutbefundes aufweist (E. 7000000) und auch weiterhin gesund bleibt. Es ist bemerkenswert, daß ein am 29. 4. splenektomiertes, gesund gebliebenes Tier R. 131 am gleichen Tage, an welchem R. 129 in den infizierten Stall kam, mit Leberbrei des Tieres, welches den Stall infiziert hatte (R. 119), subkutan geimpft wurde und am 21. 5., also fast gleichzeitig mit der stallinfizierten Ratte 129 mit einer Anämie von E. 1400000 erkrankte.

Der beschriebene Versuch, der die Möglichkeit einer Stallinfektion außerordentlich wahrscheinlich macht, stellt ein Beispiel aus einigen gleichartig ausgefallenen Versuchen dar. Es muß aber gesagt werden, daß derartige Experimente nicht regelmäßig gelingen und daß es den Anschein hat, als ob das Virus außerhalb des Rattenorganismus bald abstirbt, bzw. seine Infektiosität einbüßt.

III. Zur Frage der Schutzkraft der Milz gegen Infektion.

In einer früheren Mitteilung wurde die Bedeutung der Milz für die Infektion mit dem Virus der Rattenanämie eingehend diskutiert und auf Grund des Versuchsmateriales der Schluß gezogen, daß die Milz vor der Infektion schützt. Da nun Funktionen der Milz von anderen Organen, insbesondere vom retikulo-endothelialen System nach der Entmilzung übernommen werden können, wie die Studien über die die Immunkörperbildung zeigen, so war es interessant, nachzusehen, ob nicht auch die vor dieser Infektion schützende Funktion der Milz vikariierend übernommen wird.

R. 99 wird am 1. 1. 25 entmilzt. Das Tier bleibt gesund (dauernde Blutkontrolle). Am 15. 12. 25 wird das Tier mit Leberbrei, der unter den Anämiezeichen veränderten Ratte 158 subkutan geimpft und geht am 24. 12. ein. Das Tier war aus äußeren Gründen nicht genau beobachtet, so daß ein Blutbefund nicht beigebracht werden kann. Die histologische Untersuchung der Organe aber, welche die typischen Veränderungen aufdeckte, läßt keinen Zweifel, daß das Tier an der infektiösen Anämie der Ratte zugrunde gegangen war.

Der Versuch zeigt, daß ein vor elfeinhalb Monaten entmilztes Tier sich gegenüber einer Impfung mit virulentem Leberbrei ebenso verhält, wie ein vor kurzem splenektomiertes Tier, daß also die Schutzkraft der Milz gegen diese Infektion von anderen Organen nicht übernommen wurde. Es muß wohl zugegeben werden, daß der Versuch insofern nicht eindeutig ist, als eine wichtige Kontrolle, die gleichzeitige Impfung eines milzhaltigen gesunden Tieres nicht durchgeführt wurde und mit der Möglichkeit gerechnet werden könnte, daß es sich im Leberbrei von R. 158 um ein besonders virulentes Virus handelte, welches vielleicht auch ein milzhaltiges Tier nach subkutaner Injektion krankmachend infiziert hätte. Eine derartige Annahme hat aber nicht viel Wahrschein-

lichkeit für sich, da milzhaltige Tiere durch subkutane Impfung in früheren Versuchen niemals infiziert werden konnten. Es scheint also, daß speziell diese vor der Infektion mit Rattenanämievirus schützende Funktion der Milz von anderen Organen nicht übernommen werden kann.

Zusammenfassung.

1) Die infektiöse Anämie der Ratte kann durch Impfung von Blut auf entmilzte Ratten übertragen werden. — 2) Die Möglichkeit der Krankheitsübertragung durch Stallinfektion wird durch das Experiment wahrscheinlich gemacht. — 3) Andere Organe vermögen auch lange Zeit nach der Splenektomie (elfeinhalb Monate) die der Milz zukommende Schutzkraft gegen das Haften des Virus nicht zu übernehmen.

Weshalb fällt die Eijkmansche Gärprobe mit nitrathaltigem Wasser negativ aus?

[Biologisches Laboratorium des städtischen Gesundheitsamtes zu Stockholm.]

Von Dr. **Harald Huss.**

Vor einiger Zeit untersuchte ich 2 Brunnenwässer, die im Verdacht standen, „Krankheitsfälle" auf einem Gute verursacht zu haben. Bei der bakteriologischen Analyse wurden die folgenden Ergebnisse erhalten:

	Wasser I	Wassser II
Anzahl Kolonien per 1 ccm auf Gelatineplatten (48 Std. 20—22°)	4600	7200
Agarplatten (24 Std. 37°)	250	950
Anzahl der säurebildenden (schwarzen) Kolonien per 1 ccm auf Kongorotlaktoseagarplatten (24 Std.)		
bei 37°	9	900
„ 45°	3	19
Gärungstiter (48 Std. 45°)	100 < G	100 < G
Milchprobe (1 ccm Wasser + 9 ccm sterile Milch)		
bei 37°	24 Std. k. g. s.[1])	24 Std. k. g. s.
„ 45°	24 „ s. 48 „ k. g.	24 „ k. g. s.

1) Erklärung zu der Tabelle: Std. = Stunden; k = Koagulierung; g = Gasbildung; s = saure Reaktion (Indikator = Azolithmin).

Aus den Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß wir es in beiden Fällen mit Wasser zu tun haben, welches größere Mengen Verunreinigungen fäkaler Natur enthält. Der Gehalt an Gelatine- und Agar-

1) Siehe auch Huss, H. En ny indikator å vattenförorening. (Ein neuer Indikator auf Wasserverunreinigung.) (Nord. Hyg. Tidskr. Bd. 4. 1923.)

bakterien ist hoch. Die Wässer sind auch reich an solchen, auf Kongorotlaktoseagar bei 45° säurebildenden Bakterien, welche die Anwesenheit von Fäkalien aus dem Warmblüterdarm anzeigen. Im allgemeinen verhält es sich mit der Zahl der säurebildenden Bakterien so, daß diese bei 37° immer größer als bei 45° ausfällt. Ein Wasser kann derartige 37°-Säurebildner enthalten, ohne daß ein einziger 45°-Säurebildner in der untersuchten Quantität (für gewöhnlich 10 ccm) vorhanden ist. Die Zahl der 45°-Säurebildner korrespondiert meistens recht genau mit dem Gärungstiter eines Wassers. Auf diese Frage werde ich bei einer späteren Gelegenheit zurückkommen[1]). Bezüglich der hier in Frage stehenden Wässer und der bei ihrer Untersuchung erhaltenen Ergebnisse ist bemerkenswert, daß die Eijkmansche Gärprobe mit 100 ccm Wasser negativ ausgefallen ist, trotzdem beide Wässer in recht beträchtlichem Maße verunreinigt sind, mit anderen Worten, verhältnismäßig reich an B. coli sind. Das Verhältnis der beiden Wasserproben zu steriler Milch zeigt ja auch deutlich Verschmutzung an (Koagulierung, Gas- und Säurebildung = B. coli). Ich erinnerte mich jetzt der in dieser Zeitschrift vor etwa einem Jahre erschienenen Arbeit von Groetschel[1]), in welcher der Verfasser über einen gleichen Befund berichtet. G. konnte zwar in dem fraglichen Wasser Coli-Keime mit Hilfe von Endoplatten nachweisen, erhielt aber bei der Gärprobe negatives Ergebnis mit 100 ccm Wasser. Als Ursache der Negativität der Gärprobe konnte G. die Anwesenheit von Nitraten feststellen. Das Wasser enthielt „mindestens 100 mg N_2O_5 im Liter, vielleicht noch etwas mehr“. Durch spezielle Versuche wies G. nach, daß „der Eijkman zweifelhaft ausfiel, wenn Wasserproben verwendet wurden, die etwa 100 mg N_2O_5 im Liter enthielten, und negativ wurden, wenn der N_2O_5-Gehalt 100 mg im Liter überstieg“. Die beiden Wässer, welche ich untersuchte, enthielten:

Wasser I = 29 mg NO_3 per Liter
„ II = 106 „ „ „ „

Außerdem kam in beiden Proben (etwa 0,4, bzw. 0,1 mg/L) NO_2 vor. Hierzu möchte ich bemerken, daß die Wasserproben 5 Tage alt waren, als die Bestimmung von NO_3 und NO_2 vorgenommen wurde. Während dieser Zeit waren sie allerdings bei niedriger Temperatur aufbewahrt worden; ob größere Mengen NO_3, bzw. NO_2 aus den Wasserproben während der Aufbewahrung verschwunden sind oder nicht, ist daher unbekannt.

Als Ursache zum negativen Ausfall der Eijkmanschen Gärprobe bei nitrathaltigen Wässern nimmt Groetschel an, daß „der bei der Gärung sich bildende Wasserstoff in statu nascendi die Nitrate zu Nitriten reduziert. Er tritt deshalb als Gas nicht zutage. Die bei dem Gärungsprozeß entstehende CO_2 kann sich im Wasser lösen“.

Die Richtigkeit der oben angeführten Deutung der hier in Frage stehenden biochemischen Prozesse erschien mir etwas zweifelhaft. Das bei der Zerlegung des Traubenzuckers entstehende Gas besteht bekanntlich aus H und CO_2. Der Wasserstoff ist nur zu einem kleinen Teil in Wasser löslich. Dagegen ist die Kohlensäure darin verhältnismäßig

---

1) Groetschel, Negative Eijkmansche Probe bei positivem Coli-Befund im Wasser. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924.)

leicht löslich. Deshalb besteht ja auch das von B. coli gebildete, in den Gärungskolben sich oberhalb der Flüssigkeit ansammelnde Gas zum größeren Teil aus Wasserstoff. Erst wenn die Zuckerlösung mit den beiden Gasen gesättigt ist, fängt die Ausscheidung derselben aus dieser Lösung an. Da 100 ccm von einem Wasser, welches B. coli enthält, nicht weniger als 30—90 ccm ausgeschiedenes Gas bilden, und der größere Teil davon aus Wasserstoff besteht, erschien es mir zweifelhaft, daß eine so große Menge von diesem Gase zur Reduktion von etwa 10—20 mg NO_3 verbraucht werden müßte. Was mir auch zweifelhaft an der Deutung des Prozesses vorkam, war, daß „die bei dem Gärungsprozeß entstehende CO_2 sich im Wasser lösen kann". Angenommen, daß der Wasserstoff bei der Reduktion der Nitrate verbraucht wird, ein vollständiges Verschwinden von 15—30 ccm Kohlensäure ist nicht gut möglich. Die Gärflüssigkeit kann doch nicht mehr als ein gewisses Quantum von diesem Gas in gelöster Form beherbergen.

Um einen Beitrag zur Lösung des hier besprochenen Prozesses zu liefern, habe ich einige Versuche angestellt, über die ich im folgenden berichten will. Die Frage hat ja unzweifelhaft ein großes Interesse für den bakteriologischen Wasserhygieniker.

Für die Versuche kam ein Wasser zur Benutzung, welches aus dem Norrström (Nordstrom) geholt wurde. Der Norrström fließt durch Stockholm vom Mälarsee zum Salzsee und nimmt einen großen Teil des Abwassers der Hauptstadt auf. Die bakteriologische Beschaffenheit des Wassers wechselt recht beträchtlich. Im allgemeinen schwankt der Gehalt an B. coli zwischen 100 und 500 per ccm. Der Gärungstiter bei 45° liegt somit für gewöhnlich bei $0{,}001 < G \leqq 0{,}01$. Das Wasser eignete sich mit anderen Worten sehr gut in bezug auf Coli-Gehalt für diese Versuche.

Für sämtliche Versuche wurden Gärkolben für 100 ccm Wasser angewandt. Jeder Kolben wurde mit 20 ccm von der gebräuchlichen Eijkman-Lösung (10 Proz. Traubenzucker, 10 Proz. Pepton, 5 Proz. NaCl) und 100 ccm Wasser gefüllt. Diese Flüssigkeit erhielt dann noch die im folgenden erwähnten Zusätze. Die Versuche wurden immer bei 45° angestellt. Der Nachweis von NO_3 in den Kulturen geschah mit Hilfe von Diphenylaminschwefelsäure, von NO_2 mittels SO_2 und JK-Stärkepapier. Die Endreaktion der Kulturen wurde mit Methylrot bestimmt. Für diese Versuche genügte es vollständig, zu erfahren, ob die Wasserstoffionenkonzentration den Neutralpunkt von Methylrot in sauerer Richtung überschritten hatte oder nicht.

Versuch I. Zusatz: KNO_3.

NO_3 mg/L	Gasbildung		Gehalt der Kultur an				Methylrot nach 24 Std.
			NO_3		NO_2		
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	
10	+	.	—	.	—	.	rot
50	+	.	—	.	—	.	„
100	+	.	—	.	—	.	„
200	—	—	+	+	+	+	„

Die Ergebnisse der beiden Versuche I und II sind, wie aus den Tabellen hervorgeht, kongruent. Bei einem Zusatz von 10—100 mg/L

Versuch II. Zusatz: $NaNO_2$.

NO_2 mg/L	Gasbildung		Gehalt der Kultur an NO_2		Methylrot nach 24 Std.
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	
10	+	.	—	.	rot
50	+	.	—	.	„
100	+	.	—	.	„
200	—	—	+	+	„

NO_3, bzw. NO_2 zur Kultur trat Gasbildung innerhalb 24 Std. ein; wenn aber 200 mg/L NO_3 oder NO_2 zugefügt wurden, erschien kein Gas in den Kolben innerhalb 48 Std. NO_3, bzw. NO_2 waren nur in denjenigen Kolben nach 24 Std. noch vorhanden, welche 200 mg/L Zusatz bekommen hatten. Nach 48 Std. konnten noch deutliche Spuren von NO_3 und NO_2 nachgewiesen werden. In sämtlichen Kulturen war die Methylrotreaktion schon nach 24 Std. sauer.

Versuche III und IV.

Die Versuche wurden in derselben Weise wie I und II angesetzt. Die Ergebnisse stimmten auch mit den bei jenen Versuchen erhaltenen überein. Nur in der Beziehung war ein Unterschied zu verzeichnen, daß die Reduktion der Nitrate und Nitrite bei den Versuchen III und IV schneller vor sich ging. In den Kolben, die einen Zusatz von 200 mg/L NO_3, bzw. NO_2 erhalten hatten, waren nur Spuren von den Zusätzen nach 24 Std. vorhanden; nach 48 Std. war NO_3 oder NO_2 überhaupt nicht nachzuweisen. Irgendeine sichtbare Gasbildung war aber in den letztgenannten Kolben nicht eingetreten.

Versuch V.

2 Kolben mit 500 ccm Wasser wurden mit 100 ccm traubenzuckerfreie Eijkman-Lösung versetzt. Der eine Kolben erhielt einen Zusatz von 200 mg/L NO_3, der andere von 200 mg/L NO_2. Beide Kolben wurden bei 45° gestellt. Nach 24 Std. konnte NO_2 in beiden, und NO_3 in dem NO_3-Kolben nachgewiesen werden. Nach 48 Std. waren beide Kolben frei von NO_3, bzw. NO_2. Von den beiden Flüssigkeiten wurden nun 100 ccm auf Gärkolben zusammen mit 2 g Traubenzucker gefüllt und bei 45° gestellt. Nach 24 Std. zeigte es sich, daß Gasbildung in beiden Kolben eingetreten war, weniger aber in der Flüssigkeit, die mit NO_2 behandelt war, als in derjenigen, die mit NO_3 versetzt worden war.

Versuch VI = Versuch V.

Gasbildung. In dem Kolben, der mit NO_3 behandelter Flüssigkeit enthielt, waren 30 ccm Gas gebildet.

In dem anderen Kolben, der mit NO_2 behandelter Flüssigkeit enthielt, erschienen 60 ccm Gas.

Aus den Versuchen V und VI lernen wir, daß in der mit NO_3 oder NO_2 versetzten Gärflüssigkeit scheinbar keine Stoffe gebildet werden, die die Gasbildung verhindern. Sobald NO_3 bzw. NO_2 entfernt worden sind, greifen die Bakterien den zugefügten Traubenzucker an und spalten ihn unter Gasbildung.

Wie die Versuche I—IV zeigen, tritt keine Gasbildung in den Kolben ein, wenn das Wasser mit 200 mg/L NO_3 versetzt worden ist; dagegen wird Gas in denjenigen Kolben abgeschieden, die nur 100 mg/L NO_3 enthalten. Die Säurebildung ist aber in beiden Fällen so stark, daß

die Flüssigkeit methylrotsauer wird. Hieraus dürfte man den Schluß ziehen können, daß die Gasbildung und die Säurebildung bei der Spaltung des Traubenzuckers 2 nebeneinander verlaufende Prozesse sind. Dies stimmt ja auch mit der von Harden[1]) aufgestellten Formel für die Traubenzuckerspaltung durch B. coli. Gleichzeitig mit der Säurebildung werden aber die Nitrate reduziert. Sie sind in denjenigen Kolben, die nur 100 mg/L NO_3 enthielten, schon nach 24 Std. verschwunden; nicht einmal als Nitrite sind sie vorhanden. Dagegen sind sie auch nach 48 Std. sowohl als Nitrate wie als Nitrite in den Kolben zugegen, die einen Zusatz von 200 mg/L NO_3 erhalten hatten.

Aus diesen Versuchsergebnissen scheint es mir, daß man die folgenden Schlüsse ziehen muß. Solange NO_3 bzw. NO_2 in der Flüssigkeit vorhanden ist, bleibt der Traubenzucker insofern intakt, daß kein Gas aus ihm entsteht. Dagegen wird ein Teil des Zuckers zur Säurebildung benutzt. Diese Säurebildung verläuft neben der Reduktion der Nitrate. Solange der für die Bakterien leicht zugängliche Nitratsauerstoff zur Verfügung steht, brauchen diese nicht den Traubenzucker anzugreifen, um ihren O-Bedarf zu decken. Die Nitrate schützen mit anderen Worten den Traubenzucker und verhindern hierdurch die Gasbildung. Im praktischen Leben hat man, wie bekannt, diese Schutzwirkung der Nitrate gegenüber Zuckerarten lange ausgenutzt, indem man in den Käsereien dem Käse Salpeter zusetzt, um die „Blähung“ der Ware während der Reife zu verhindern. Jetzt haben wir aber aus den Versuchen III und IV erfahren, daß die Nitrate recht schnell aus dem Inhalt der Gärkolben verschwinden können. Aus den 200 mg/L NO_3 waren in dem beschriebenen Fall nach 24 Std. nur noch Spuren übrig. Weshalb ist denn in den folgenden 24 Std., innerhalb welcher Zeit auch die Spuren von NO_3 und NO_2 durch die Bakterien umgesetzt wurden, kein Gas in den Kolben gebildet worden? Weil das Nährsubstrat bei diesem Zeitpunkt zu sauer geworden ist? Wenn dies der Fall wäre, würde man vielleicht durch Zusatz von säurebindenden Stoffen die Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration langsamer gestalten können, und so B. coli die Möglichkeit geben, den Traubenzucker zur Gasbildung zu benutzen. Um diese Frage zu beantworten, wurden die folgenden Versuche angestellt.

Versuch VII.

Der Versuch wurde in derselben Weise wie die Versuche I und II angestellt, nur bekamen die Kulturen außerdem noch einen Zusatz von n-NaOH bis zur alkalischen Reaktion (Indikator: Bromthymolblau). Die Versuchsergebnisse gehen aus der folgenden Tabelle hervor.

NO_3 mg/L	n-NaOH ccm (in Kolben à 100 ccm)	Gasmenge in ccm		Gehalt der Kultur an				Methylrot nach 24 Std.
				NO_3		NO_2		
		nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.	
100	—	38	38	—	.	—	.	rot
200	—	—	—	Spuren	—	Spuren	—	„
200	0,2	11	11	—	.	—	.	„

1) In Emmerling, O., Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. 1902.

Aus der obenstehenden Tabelle ersieht man, daß die Reduktion der Nitrate in einem Nährboden, dessen Anfangsreaktion stark alkalisch ist, schneller vor sich geht als in einem Substrat, in dem die gebildete Säure nicht gebunden wird. Infolgedessen wird der Traubenzucker für die Coli-Bakterien auf einem früheren Stadium, d. h. auf einem Stadium, wo die Wasserstoffionenkonzentration keine Hindernisse für die Entwicklung der Bakterien setzt, zugänglich und kann unter Gasbildung zerlegt werden. Je größer der Gehalt des Wassers an Nitraten ist, desto kleiner fällt die Menge des freigemachten Gases aus.

Da die gebildete Gasmenge bei der Benutzung von NaOH als säurebindende Substanz ziemlich klein war, versuchte ich auch die dialkalischen Phosphate als Puffer zu gebrauchen. Ueber diese Versuche wird im folgenden berichtet. Jeder Gärkolben enthielt 100 ccm von dem Norrström-Wasser und außerdem immer 200 mg/L NO_3. Zu den Kolben wurden nachstehende Mengen K_2HPO_4, Am_2HPO_4, bzw. Na_2HPO_4 gesetzt, wie aus den unten mitgeteilten Tabellen näher hervorgeht.

Versuch VIII.

NO_3 mg/L	K_2HPO_4 in g	Gasmenge in ccm		Gehalt der Kultur an				Methylrot nach 24 Std.
		nach 24 Std.	nach 48 Std.	NO_3 nach 24 Std.	NO_3 nach 48 Std.	NO_2 nach 24 Std.	NO_2 nach 48 Std.	
200	0,2	—	—	+	+	+	+	rot
	0,5	—	—	+	+	+	+	„
	1,0	11	11	—	.	—	.	„
	3,0	75	75	—	.	—	.	„

Versuch IX. Ausführung = Versuch VIII, aber mit einem Zusatz von 1, 2 bzw. 3 g K_2HPO_4 zu den Gärkolben. Nach 24 Std. waren weder NO_3 noch NO_2 in den Kulturflüssigkeiten nachzuweisen. Sämtliche Kulturen wurden mit Methylrot tiefrot. Die in 24 Std. erzeugte Gasmenge betrug bei einem Zusatz von

1 g K_2HPO_4 = 12 ccm
2 „ „ = 28 „
3 „ „ = 90 „

Versuch X. Ausführung = Versuch VIII, aber mit Zusatz von Am_2HPO_4 als Puffer. Die Kulturen waren nach 24 Std. frei von NO_3 und NO_2; sie färbten sich mit Methylrot rot. Die in 24 Std. gebildete Gasmenge betrug bei einem Zusatz von

1 g Am_2HPO_4 = 5 ccm
2 „ „ = 19 „
3 „ „ = 30 „

Versuch XI. Ausführung wie Versuch VIII, aber mit einem Zusatz von Na_2HPO_4. Die nach 24 Std. freigemachte Gasmenge betrug bei einem Zusatz von

1 g Na_2HPO_4 = 0 ccm
2 „ „ = 0 „
3 „ „ = 22 „

Nach 48 Std. waren die beiden Kolben mit 1, bzw. 2 g Na_2HPO_4 immer noch gasfrei. Der Inhalt dieser Kolben enthielt nach 24 Std.

Spuren von NO_3 und NO_2, färbten sich aber bei Zusatz von Methylrot rot. Nach 48 Std. waren die Flüssigkeiten NO_3- und NO_2 frei.

Versuch XII. Wurde wie Versuch IX angesetzt. In 24 Std. sammelte sich in den Kolben mit einem Zusatz von

1 g K_2HPO_4 = 12 ccm Gas
2 „ „ = 45 „ „
3 „ „ = 70 „ „

Der Zusatz von dialkalischen Phosphaten zeigte sich also als ein Mittel, um Gasbildung bei einem stark nitrathaltigen Wasser hervorzurufen. In bezug auf Wirkungsvermögen steht von den geprüften Salzen das Dikaliumphosphat an erster Stelle. Schon bei einem Zusatz von 1 g dieser Verbindung zu dem 100 ccm Wasser fassenden Gärkolben wurden 12 ccm Gas freigemacht, trotzdem daß das Substrat 200 mg/L NO_3 enthielt. Der Zusatz von K_2HPO_2 bei der Eijkmanschen Gärprobe scheint somit günstig auf die Gasbildung einzuwirken. Nach einigen vorläufigen Versuchen, die ich gemacht habe, zu urteilen, dürfte man vielleicht auf diesem Wege die Gärprobe verbilligen können. Ein kleiner Zusatz von K_2HPO_4 könnte einen Teil des teuren Traubenzuckers „ersetzen". Die gebildete Gasmenge wird wahrscheinlich immer groß genug werden, um die Ablesung der Probe sicher zu gestalten, mit anderen Worten, um zu beurteilen, ob die Probe sicher positiv oder negativ ausgefallen ist. Die Veröffentlichung dieser jetzt schon angefangenen Versuche behalte ich mir vor.

Das Diammoniumphosphat wirkt auch gut als Puffer bei einem nitrathaltigen Wasser, doch nicht so gut wie das Kalisalz. Am schlechtesten funktioniert das Dinatriumphosphat für den hier in Frage stehenden Zweck. Nur wenn es in größeren Mengen zugesetzt wird, eignet es sich als Puffer bei der Gärprobe.

Aus den Versuchen geht also hervor, daß ein Zusatz von 1 g K_2HPO_4 genügend ist, um bei einer Wassermenge von 100 ccm eine negative Gärprobe in eine positive zu verwandeln, auch wenn das Wasser bis zu 200 mg/L NO_3 enthält.

Zusammenfassung.

Die in der Ueberschrift gestellte Frage „weshalb fällt die Eijkmansche Gärprobe mit nitrathaltigem Wasser negativ aus?" dürfte nach der Meinung des Verfassers folgendermaßen zu beantworten sein: Weil die Nitrate den Traubenzucker gegen die Angriffe seitens B. coli schützt. Dieser Schutz besteht scheinbar so lange wie Spuren von NO_3 bzw. NO_2 in der Gärflüssigkeit vorhanden sind. Wenn der Gehalt des Wassers an NO_3 so groß ist, daß die neben der NO_3-Reduktion durch die Spaltung des Traubenzuckers stattfindende Säurebildung die Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeit ungeeignet für die fortgesetzte Entwicklung von B. coli macht, bevor die Nitrate gänzlich verschwunden sind, fällt die Probe negativ aus. Wenn aber die Nitratmenge kleiner ist, z. B. etwa 100mg/L NO_3, bekommt man eine positive Gärprobe. Durch Zusatz von 1 g K_2HPO_4 kann bei einem Wasserquantum von 100 ccm eine negative Gärprobe in eine positive verwandelt werden, auch wenn das Wasser bis zu 200 mg/L NO_3 enthält. Bei jeder

Wasserprobe sollte die Untersuchung doch immer die Bestimmung der im Wasser vorhandenen bei 45° Milchzucker spaltenden Bakterien umfassen. Diese Bestimmung wird am vorteilhaftesten mit Anwendung von Kongorotlaktoseagarplatten (0,2 Proz. Kongorot, 1 Proz. Laktose und 3 Proz. Agar) ausgeführt. Hierbei werden 10 ccm Kongoagar mit 10 ccm Wasser gemischt. Die Platte wird bei 45° 24 Std. gehalten, worauf die schwarzen Kolonien gezählt werden. Durch diese Bestimmung erhält der Untersucher eine äußerst wertvolle Kontrolle auf die Gärprobe; außerdem ermöglicht die Bestimmung, den Gehalt des Wassers an bei 45° Milchzucker vergärenden Bakterien (im allgemeinen = B. coli) genauer als durch die Gärprobe anzugeben. Wenn bei gleichzeitigem Ansetzen von Gärprobe und Kongoagarplatten nur die letztere Kultur auf die Anwesenheit von B. coli deutet, während die Gärprobe negativ ausfällt, erhält der Bakteriologe hierdurch einen Fingerzeig: Prüfe das Wasser auf Nitrate! Wie oben gesagt wurde, kann man sich auch gegen derartige „Unstimmigkeiten" schützen, wenn man beim Anstellen der Gärprobe K_2HPO_4 gleich zusetzt.

Stockholm im Februar 1926.

Nachdruck verboten.

Ein neues Verfahren zur Einsporenkultur anaërober Bakterien, nebst Bemerkungen über das Versporungsoptimum der Anaërobier.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg (Direktor: Prof. Dr. Selter).]

Von **W. Möhrke.**

Mit 1 Kurve im Text.

Die Bestrebungen, Bakterienkulturen „reiner Linie" zu erhalten, d. h. solcher Kulturen, die unter mikroskopischer Kontrolle aus einer einzigen Zelle hervorgegangen sind, gehen auf Lindner zurück, der 1905 aus den Bedürfnissen der Praxis heraus zu dem Verfahren der „Tröpfchenkultur" gelangte. Es sind seither noch einige andere Methoden beschrieben worden, die das gleiche Ziel verfolgen. Sie haben alle das Gemeinsame, daß sie von einem in passender Weise verdünnten flüssigen Kulturmaterial Ausgang nehmen, von dem ein in seiner Größe etwa dem Gesichtsfelde des Mikroskops entsprechendes Tröpfchen eine einzige Zelle enthält.

Nur bei dem neuerdings von Oerskov angegebenen Verfahren werden die Bakterien direkt auf der Agaroberfläche verteilt, und es wird durch besondere Art des Ausstreichens erreicht, daß dann ein einzelner freiliegender Bazillus unter dem Mikroskop sichtbar wird.

Die weitere Behandlung der isolierten Bakterien gestaltet sich verschieden. Lindner und Mutch geben einen Tropfen flüssige Gelatine oder Agar zu dem Tröpfchen, welches die Zelle enthält, und bebrüten dann im hohlen Objektträger. Schouten fischt die Bakterien mit Glasnadeln und überträgt sie in geeignetes Nährmedium. Barber verwendet zu dem gleichen Zwecke Glaskapillaren. Chambers vervollkommnete die Barbersche Methode durch Präzisionsinstrumente. Burri überträgt die Tröpfchen bei seinem bekannten Tuscheverfahren auf Gelatine. Orskov beobachtet die Entwicklung der auf Agar isolierten Einzelzelle direkt ohne weitere Maßnahmen mit dem Trockensystem.

Man sieht, daß die bisher bekannt gewordenen Methoden der Einzellkultur nicht zahlreich sind.

Burri erhebt gegen das Verfahren von Lindner und Mutch den Einwand, der ebenso für die Orskovsche Technik gilt, daß diese Methoden unsicher seien, da einzelne Zellen sich in kleinen Tropfen schwer erkennen lassen. Ich konnte mich in zahlreichen Beobachtungen davon überzeugen, daß besonders bei der Betrachtung kleiner Agarstückchen mit dem Trockensystem die exakte Unterscheidung der Bakterienzellen von anderen Gebilden meist recht schwierig ist.

Das Verfahren nach Barber-Chambers genügt wohl den Anforderungen moderner Technik, ist aber meines Wissens in Deutschland bisher nicht angewandt worden, da einer weiteren Verbreitung der Methode der Umstand hinderlich ist. daß die dazu erforderlichen Präzisionsinstrumente ganz außerordentlich teuer sind. Man vermißt selbst in den Katalogen führender deutscher Firmen solche Apparate. Während die Barbersche Einzeltechnik in den außerdeutschen Ländern, namentlich in Amerika, viel geübt wird, ist in deutschen Arbeiten vorzugsweise die für die meisten Zwecke ausreichende Burrische Methode benutzt worden. Heim bemerkt, daß ihre Zuverlässigkeit dadurch beeinträchtigt wird, daß durch die Tusche Keime verdeckt werden könnten, die sich somit der Beobachtung entziehen. Auch Gotschlich weist darauf hin, daß sich andere Keime in den Tuschetröpfchen verstecken können. Burri verwahrt sich gegen diesen Einwand, der bei sachgemäßer Anwendung und genauer Befolgung seiner Vorschriften nicht stichhaltig sei.

Es bestehen außerdem Bedenken, ob sich die Bakterien gegenüber der Tusche wirklich völlig indifferent verhalten. Nach Versuchen Burris hat die Tusche keinen entwicklungshemmenden Einfluß auf Bakterien. Er erwähnt allerdings, daß Sporen gewisser Arten in Berührung mit der Tusche nicht auskeimen. Ob und inwieweit das auch für Sporen der Anaërobier bzw. deren vegetative Formen gilt, bedarf noch der Untersuchung.

Burri hebt hervor, daß der auf Gelatine isolierte Keim grundsätzlich nach einem der gebräuchlichen Anaërobenzüchtungsverfahren behandelt werden könne. Mißerfolge seien nicht durch die Methode, sondern durch die Natur der Verhältnisse bedingt. Er weist auf die bekannte Tatsache hin, daß bei Uebertragung einer Spur von Material Anaërobenkulturen oft nicht angehen. Wenn man bedenkt, daß in solch geringer Menge immer noch Hunderttausende von Bakterien anwesend sind, so könne von einer einzigen Zelle nicht erwartet werden, daß sie auskeimt. Burri scheint also auf dem Standpunkte zu stehen, daß Kulturen reiner Linie von Anaëroben infolge ihrer biologischen Besonderheiten nur sehr schwer zu erlangen sind. Aus diesem Gesichtspunkte kommt Zeißler zu dem abschließenden Urteil, daß die Einzellkultur anaërober Bakterien nach der Burrischen Methode aussichtslos ist.

Diese Behauptung ist nicht ganz gerechtfertigt, da Burri selbst mitteilt, daß es ihm gelungen sei, eine Einzellkultur des Bacillus putrificus Bienstock zu erhalten. Er ging dabei so vor, daß er den im Tuschetröpfchen sichtbar gemachten Bazillus in Agar von 42° übertrug, den er dann in hoher Schicht erstarren ließ. Kolle, Ritz und Schloßberger haben mit dem Burrischen Verfahren keine praktischen Erfolge erzielt. Oft wiederholte Versuche scheiterten. Die Schwierigkeit liegt nach Angabe der Autoren darin, daß die vegetativen Formen häufig abgestorben sind; die Sporen sind schwer zu isolieren und keimen ebenfalls nicht aus. Wenn auch der Ansicht Zeißlers nicht unbedingt beigestimmt werden kann, so ist doch mit Rücksicht auf das negative Resultat der Arbeit von Kolle, Ritz und Schloßberger zuzugeben, daß die Methode Burris sich in der bisherigen Art der Ausführung für die Einzellkultur der Anaërobier nicht eignet und nur in seltenen Ausnahmefällen zum Ziele führen kann.

Man darf sich nun nicht einfach mit der Feststellung begnügen, daß anaërobe Bakterien bei Aussaat relativ geringer Mengen des Kulturmaterials schwer angehen, und demgemäß geringe Aussicht für das

Gelingen der Einzellkultur vorhanden ist. Die Tatsache, daß ein großer Teil der Zellen abgestorben ist, beruht wahrscheinlich darauf, daß alle Anaërobenstämme mehr oder weniger autolytische Enzyme bilden. Durch Verwendung optimaler Nährböden und Ueberimpfung nach kurzer Wachstumszeit läßt es sich leicht erreichen, daß die überwiegende Zahl der Keime entwicklungsfähig bleibt, während in schlechten Nährböden infolge der langsameren Entwicklung der Kultur erst nach relativ längerer Zeit überimpft werden kann, in der nunmehr das autolytische Ferment voll zur Wirkung gelangen kann, so daß dann die Zahl der abgestorbenen Zellen überwiegt.

Der Grund für die Mißerfolge bisheriger Arbeiten ist darin zu sehen, daß die Autoren diese Verhältnisse außer acht ließen und es verabsäumt haben, von Kulturen auszugehen, die in optimalen Nährböden gewachsen sind. In dieser Beziehung kommt das Oberflächenwachstum gar nicht in Frage, da das Plattenverfahren unter allen anaëroben Züchtungsmethoden die ungünstigste ist, obwohl die Technik durch Einführung der Zeisslerschen Traubenzuckerblutagarplatte wesentlich vervollkommnet wurde. Auch die von Burri empfohlene Züchtung in hoher Agar- bzw. Traubenzuckeragarschicht bietet den Anaëroben noch keineswegs die besten Wachtumsbedingungen. Als optimale Kulturmedien kommen nur Blutbouillon und Hirnbrei in Betracht. Der isolierte Keim muß selbstverständlich ebenfalls in eines dieser hochwertigen Nährmedien übertragen werden.

Unter Berücksichtigung der hier angegebenen Gesichtspunkte macht die Einzellkultur anaërober Bakterien ebensowenig Schwierigkeiten, wie diejenige irgend einer anderen Bakterienart. In den letzten 3 Jahren sind in einigen Arbeiten amerikanischer Autoren, die nach der Barberschen Einzelltechnik arbeiteten, bereits vielfach positive Resultate in dieser Richtung erzielt worden.

Starin weist besonders darauf hin, daß optimale Nährböden für die Einzellkultur der Anaërobier von großer Bedeutung seien. Es gelang ihm, unter 800 Versuchen 253mal Kulturen reiner Linie des Bacillus botulinus Typus A und B zu erhalten. Er erwähnt im Gegensatz zu Kolle, Ritz und Schloßberger, daß sich gerade die Sporen am besten für die Versuche eignen. Auch Bengtson hat das Barbersche Einzellverfahren erfolgreich zur Züchtung zweier Stämme des Bacillus botulinus A und B, sowie einiger Stämme aus Fliegenlarven angewandt. Kahn berichtet in einer eingehenden Anaërobenstudie über die Einzellkultur von 15 verschiedenen Arten.

In Amerika hat die Kenntnis der Anaëroben neuerdings wesentliche Fortschritte gemacht, was wohl damit zusammenhängt, daß die Botulinusforschung dort in letzter Zeit mit großen Mitteln betrieben wird. Nach Hempl-Heller stehen die Ansichten des westlichen Europa und Amerikas im Widerspruch zu denen Zentraleuropas. Man vergleiche nur die von Hempl-Heller aufgestellte Systematik mit der Einteilung Zeißlers, die nach Knorr zurzeit als die beste anzusehen ist. Hempl-Heller erhebt gegen die deutschen Arbeiten nicht zu Unrecht den Vorwurf, daß hier sehr viel mit unreinen Kulturen gearbeitet wird, wodurch die Divergenz der Resultate sich vielleicht zum Teil erklären läßt. Die Reinkultur anaërober Bakterien ist eine der schwierigsten Aufgaben, die dem Bakteriologen in der Praxis gestellt werden können. Um die Anaërobenforschung auf eine gesicherte Basis zu stellen, ist deshalb zu fordern, daß mehr mit Einzellkulturen gearbeitet wird, als das bisher geschehen ist.

Knorr erwähnt in einer Zusammenstellung neuerer Arbeiten über pathogene Anaërobier, daß es noch unentschieden sei, inwieweit die Barbersche Einzelltechnik praktischer ist, als die Burrische und zitiert an dieser Stelle eine Arbeit von Kolle über die Ergebnisse biologischer Prüfung von Gasbrandkulturen. Man gewinnt aus dieser Bemerkung den Eindruck, als ob mit dem Burrischen Verfahren bereits nennenswerte Erfolge erzielt worden wären. Kolle weist aber hier nur nochmals auf das Ergebnis der Arbeit von Kolle, Ritz und Schloßber-

ger hin, daß der Versuch einer Einzellkultur der Gasbrandbazillen eben keine praktischen Erfolge gehabt hat. Daher kann von einem Vergleich der beiden Methoden nicht gut die Rede sein. Wirklich beachtenswerte Resultate sind bisher nur nach der Barberschen Technik erzielt worden.

Bei der Nachprüfung des Burrischen Tuscheverfahrens, wobei es mir ebenfalls in zahlreichen nach der Originalvorschrift angestellten Versuchen nicht gelungen ist, Anaërobenkulturen reiner Linie zu erhalten, gelangte ich zu einer neuen Methode der Einsporenkultur anaërober Bakterien, welche von der Tatsache ausgeht, daß die Entwicklungsfähigkeit der Sporen durch die Behandlung mit Farbstoffen nicht beeinträchtigt wird. Das Verfahren gestaltet sich so, daß feine Tröpfchen einer verdünnten Sporenaufschwemmung auf ein quadriertes Deckglas übertragen werden. Nach Färbung und Besichtigung unter dem Mikroskop werden dann die Quadrate, welche nur eine Spore tragen, mit dem Diamanten herausgeschnitten und in ein geeignetes Nährmedium übertragen. Diese Methode, die nach den bisherigen Ergebnissen dasselbe leistet wie die Barbersche, hat vor jener den Vorzug, daß sie mit ganz einfachen Mitteln ausgeführt werden kann, die jedem Laboratorium zur Verfügung stehen. Sie hat außerdem den Vorteil, daß die gefärbten Sporen sich unter dem Mikroskop vollkommen klar und deutlich erkennen lassen, so daß keine Spore übersehen werden kann.

Die Deckgläschen, auf denen die Sporen gefärbt werden sollen, haben die Größe 18×18 cm und sind so dünn wie möglich zu wählen. Sie werden mit dem Schreibdiamanten in 9 Quadrate von je $1^1/_2$ bis 2 mm Seitenlänge eingeteilt. Falls man es nicht vorzieht, sich solche quadrierten Deckgläschen herstellen zu lassen, kittet man auf einen Objektträger zwei schmale Glasstreifen von etwa 5 mm Breite senkrecht zueinander mit einem Tropfen Wasserglas auf. In den so entstandenen rechten Winkel wird das Deckgläschen hineingelegt und mit dem Diamanten liniiert, der an einem Glasstabe von ca. 3 mm Durchmesser geführt wird. Es kommt wesentlich darauf an, daß die Deckgläschen absolut sauber und fettfrei sind. Man verwendet am besten neues Material. Sie werden zunächst in Kalilauge gekocht, dann liniiert, danach mit dem gebräuchlichen Salzsäurealkohol geputzt und einige Stunden in destilliertem Wasser aufbewahrt, getrocknet, sterilisiert und in einem sterilen Behälter trocken aufbewahrt. In derselben Weise werden die für das Verfahren benötigten Objektträger hergerichtet und aufbewahrt.

Als Ausgangskulturmaterial für die Einzellkultur dient eine 2tägige gut gewachsene Blutbouillonkultur der betreffenden Anaërobenart. (Herstellung der Blutbouillon siehe bei Zeissler, Die Technik der Anaërobenzüchtung.) Erfahrungsgemäß ist durchschnittlich eine etwa 15fache Verdünnung mit destilliertem Wasser geeignet, um in einem feinen Tröpfchen von ca. $^1/_2$ mm Durchmesser eine Spore zu erhalten. Der Grad der zu wählenden Verdünnung hängt im übrigen natürlich von der Wachstumsintensität und dem Versporungsgrade ab und muß von Fall zu Fall besonders festgestellt werden.

Man kann auch gut versporte Serumagarkulturen als Ausgangsmaterial benutzen. In diesem Falle wird die Bakteriensäule mit dem Messer aus dem Agar herausgeschnitten, so weitgehend wie möglich von den anhaftenden Agarstückchen befreit, die keine Kulturbestandteile erkennen lassen, und dann zwischen zwei Glasstückchen zerquetscht, die aus einem längsdurchschnittenen Objektträger hergestellt sind. Die beiden Glasstücke mit dem daran haftenden zerriebenen Kulturmaterial werden in ein Reagenzglas mit destilliertem Wasser übertragen. Nach gutem Umschütteln wird die Aufschwemmung durch steriles Fließpapier filtriert. Von dieser leicht opaleszierenden Flüssigkeit

können dann die Verdünnungen angelegt werden. Dieses Verfahren hat den Vorteil, daß fast gar keine störenden Partikel später im mikroskopischen Bilde erscheinen.

Indessen gibt die Blutbouillonkultur auch so wenig störende Niederschläge, daß sie im allgemeinen zu bevorzugen ist, da die Anaërobier darin wesentlich besser versporen. Hirnbrei ist für die Einzellkultur als Ausgangsmaterial ungeeignet, da der Detritus sich weder durch Filtrieren noch Zentrifugieren beseitigen läßt.

In jedes der neun Quadrate, und zwar auf der Seite des Deckgläschens, auf der sich die eingeritzten Linien befinden, wird ein feinstes Tröpfchen der Aufschwemmung übertragen. Der Durchmesser des Tröpfchens soll nach Möglichkeit nicht größer sein, als der Durchmesser des Gesichtsfeldes im Mikroskop, da mit zunehmender. Größe des Tropfens die Feststellung der Anzahl der darin befindlichen Mikroorganismen wesentlich erschwert wird.

Lindner und Burri verwenden zur Uebertragung der Tröpfchen Schreibfedern. Ich benutzte anfangs Glaskapillaren. Sie werden in der Weise hergestellt, daß man ein Glasrohr von ca. 6 mm Durchmesser in der Flamme zu einer Kapillare auszieht, die dann durchschnittlich einen Durchmesser von 0,3 bis 0,7 mm haben wird. Man befestigt nun an einem ca. 20 cm langen Stück dieser Kapillare an dem einen Ende eine kleine Metallklemme, die nach Art der Cornetschen Pinzetten wirkt, hält die Kapillare am anderen Ende, so daß sie senkrecht herabhängt, und bestreicht sie langsam mit der Sparflamme eines Bunsenbrenners dicht oberhalb der Stelle, an der die Klemme befestigt ist. Bei richtig bemessener Zeit der Flammenwirkung sinkt die Klemme ruckartig 5—10 cm tiefer; es entsteht eine Kapillare von ca. 0,06 bis 0,1 mm Durchmesser. Nach diesem Verfahren konnte ich Kapillaren bis zu 6 μ-lichter Weite herstellen. Für den Zweck der Uebertragung feiner Tröpfchen wird die Kapillare kurz unterhalb der Verjüngungsstelle, an welcher der Durchmesser von ca. 0,6 mm auf 0,06 mm abnimmt, abgebrochen und etwa 3 cm hoch mit der Bakterienaufschwemmung gefüllt. Es werden dann auf einem Testgläschen feine Tröpfchen abgesetzt, die dadurch auf die geforderte Größe gebracht werden, daß man die Höhe der Flüssigkeitssäule in der Kapillare durch Abtupfen auf Fließpapier verringert, oder evtl. an der Spitze feinste Glasteilchen absplittert. Diese Methode hat aber den Nachteil, daß sie recht zeitraubend ist.

Ich ging deshalb später wieder dazu über, die Tröpfchen nach dem Vorgange Lindners mit einer spitzen Schreibfeder zu übertragen. Man muß darauf achten, daß die Feder niemals mit der Flamme sterilisiert wird, da hierdurch die Spitze recht merklich leidet. Es genügt, daß die Feder mit verdünnter Chromschwefelsäure behandelt, darauf mehrere Male sorgfältig mit Alkohol geputzt und getrocknet wird. Die Uebertragung mit der Schreibfeder hat wieder den Nachteil, daß die Tröpfchen recht ungleichmäßig ausfallen, so daß es erst nach einiger Uebung gelingt, Tropfen von gleichmäßiger Größe und geeigneten Dimensionen abzusetzen.

Nachdem die neun Quadrate des Deckgläschens mit feinen Tröpfchen beschickt sind, wird das Präparat unter eine Petri-Schale gesetzt und ist dann nach ca. 1 Min. genügend trocken. Das Deckgläschen wird nun mit einer Pinzette gefaßt und ohne vorhergehende Fixierung vollständig mit Färblösung bedeckt. Die Färbedauer beträgt 1 Min. Am besten eignen sich Methylviolett 6 B und Viktoriablau B. Gentianaviolett gibt störende Niederschläge. Methylenblau und Fuchsin sind ungeeignet; das letztere färbt die Anaëroben ganz ungewöhnlich schwach, und auch bei Fuchsinfärbung erscheinen die Konturen der Bakterien, wenn man sie unter dem Mikroskop durch das Deckglas hindurch betrachtet, so blaß, daß man sie unter Umständen übersehen kann. Viktoriablau wird in 2proz. wässeriger Lösung verwendet. bei Färbung mit Methylviolett werden zu 10 ccm der alkoholischen gesättigten Stammlösung 90 ccm destilliertes Wasser hinzugefügt. Wenn sich infolge zu starker Konzentration doch Farbniederschläge auf dem Deckgläschen zeigen sollten, so können ohne Schaden für die Färbungsintensität zu 10 ccm der Stammlösung 140, ja sogar 190 ccm Wasser zugegeben werden. Vor dem Gebrauche ist die Farblösung zu filtrieren. Da der sonst übliche Phenolgehalt fehlt, ist es zweckmäßig, die Farblösung jedesmal vor Gebrauch frisch herzustellen. Nach der Färbung wird das Präparat ganz kurz mit sterilem destillierten Wasser abgespült und in einem Gefäß mit sterilem destillierten Wasser etwa 5—10mal mit mäßiger Geschwindigkeit hin und hergeschwenkt, um die letzten Farbreste zu beseitigen. Darauf wird das Deckgläschen zwischen sterilem, glattem Fließpapier getrocknet.

Ich legte nun anfangs die Deckgläschen auf eine nach Art eines hohlen Objektträgers konstruierte Kammer, so daß der Rand allseitig gestützt war und die mittleren

Partien frei über der Unterlage schwebten. Bei diesem Verfahren hat man durch Bruch, namentlich bei Anwendung sehr dünner Deckgläser, erhebliche Verluste. Ich ging deshalb dazu über, die Präparate direkt (mit der gefärbten Seite nach unten) mit vier an den Ecken aufgetragenen feinen Tröpfchen Wasserglas auf dem Objektträger zu befestigen, der natürlich auch steril und sauber geputzt sein muß. Es ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Wasserglaströpfchen sich nicht weiter ausbreiten können und in die Quadrate gelangen. Da das Wasserglas in solch kleinen Quantitäten sehr rasch eintrocknet, ist es vielleicht noch zweckmäßiger, mit spitzem Glasstabe einen Tropfen an die Ecken des auf den Objektträger gelegten Deckglases seitlich heranzubringen und ihn etwa 1 mm zwischen diesem und dem Objektträger vordringen zu lassen. Das Präparat wird nunmehr in einen Kreuztisch gespannt, der präzise gearbeitet sein muß, so daß der Objektträger sich beim Verschieben immer in einer Ebene befindet. Ungenau gearbeitete Kreuztische erschweren das Arbeiten ganz ungemein, da man dann bei jeder Drehung der Mikrometerschrauben des Kreuztisches auch die Feineinstellung des Mikroskopes ändern muß.

Zur mikroskopischen Betrachtung benutzte ich die Oelimmersion, $^1/_{12}$ in Verbindung mit Okular I (eines Leitzschen Mikroskopes) und Okular III zur genaueren Differenzierung unklarer Formen. Man merkt sich nun diejenigen Quadrate, in denen sich nur eine einzige Spore befindet. Die dabei im Gesichtsfelde etwa noch vorhandenen vegetativen Formen können unberücksichtigt bleiben, da sie durch den Färbeprozeß abgetötet sind. Unter den gefärbten Sporen lassen sich 3 Typen unterscheiden: 1) Stäbchen mit relativ kleinen, eben zur Entwicklung gelangenden Sporen. Diese färben sich auch im Zentrum und gehen bei der Einzellkultur niemals an. 2) Voll entwickelte, noch mit Stiel versehene Sporen, die sich im Zentrum nicht färben. 3) In der Mitte ungefärbte Sporen, bei denen der Stiel fehlt oder an einem Ende der Spore leicht angedeutet ist. Nur die Formen der 2. und 3. Gruppe sind für die Einzellkultur verwendbar.

Nach der Feststellung der Felder, die nur eine Spore enthalten, wird das auf der Oberfläche des Deckglases haftende Oel mit sterilem Fließpapier sorgfältig entfernt, wobei besonders darauf zu achten ist, daß das Oel sich nicht zwischen Objektträger und Deckglas kapillar ausbreiten kann. Eine besondere Sterilisation der vom Oel gereinigten Fläche ist nicht notwendig, wie ich mich in vielen Versuchen überzeugt habe. Es geschieht nicht häufig, daß eine Verunreinigung durch Luftkeime erfolgt, die nach Fertigstellung der Einzellkultur durch Anlegen einer unter aëroben Verhältnissen bebrüteten Kontrolle leicht erkannt und ausgeschaltet werden kann.

Es hieße den Begriff der Einzellkultur zu eng fassen, wenn man verlangt, daß jede Verunreinigung durch fremde Bakterien im Laufe des Verfahrens prinzipiell auszuschließen sei. Der Sinn der Einzellmethode ist der, daß eine Reinkultur erhalten wird, die aus einer einzigen Zelle hervorgegangen ist. Dabei ist es gleichgültig, ob eine Verunreinigung durch andere Keime zustande kommt, wofern nur wie in obigem Falle die Gewißheit besteht, daß diese Keime mit Sicherheit sich wieder von der Einzellkultur unterscheiden und trennen lassen.

Um ganz sicher zu gehen, kann die Oberfläche des Deckglases noch mit einem in verdünnte Chromschwefelsäure getauchten Tupfer sterilisiert werden. Hierauf wird das Deckgläschen mit dem Messer an den Befestigungsstellen von der Unterlage getrennt, auf der gegenüberliegenden Fläche wieder an den Ecken mit je einem Tröpfchen Wasserglas versehen und auf einen sterilen Objektträger geklebt, so daß die Seite, auf der die Sporen haften, nach oben kommt. Die Umrisse derjenigen Quadrate, welche nur eine Spore enthalten, werden jetzt mit dem Diamanten kräftig nachgezogen, und man kann so bequem

ein einzelnes kleines Quadrat herausschneiden, welches mit einer geeigneten Pinzette gefaßt und mit der Rückseite (auf der sich die Spore nicht befindet) an der Spitze eines Platindrahtes, der hier eine winzige Quantität Vaseline trägt, zum Haften gebracht wird. Die Platinnadel wird dann in ein Reagenzglas mit Blutbouillon gebracht und kräftig hin und her bewegt. Man sieht deutlich, wie das feine Glasstückchen zu Boden sinkt. Es ist selbstverständlich, soweit das nicht besonders hervorgehoben ist, daß diejenigen Instrumente und Stoffe, welche im Verlaufe des Verfahrens mit dem kleinen Quadrat in unmittelbarer Berührung gewesen sind, steril sein müssen.

Ich erwähnte oben, daß die vegetativen Formen der anaëroben Bakterien durch den Färbeprozeß abgetötet werden. Nach Thurn sind nun andere Bakterienarten — untersucht wurden Kokken, Milzbrand, Diphtherie, Coli, Typhus etc. — sehr resistent gegen die Färbung, so daß ein Teil der Zellen selbst durch 3—5 Minuten dauernde Färbung mit Fuchsin bzw. Methylenblau noch lebensfähig bleibt. Bestätigende Versuche sind auch neuerdings von Schmidt mitgeteilt worden. Ich prüfte in mehreren Versuchsserien die Widerstandsfähigkeit der vegetativen Anaërobenkeime gegen Farbstoffe. Zur Färbung diente Methylviolett und Viktoriablau. Die 12 untersuchten Stämme (Tetanus, Botulinus, Putrificus, malignes Oedem) wurden in Agar, Blutbouillon und Hirnbrei gezüchtet. Von den eintägigen unversporten Kulturen wurden jedesmal 50—80 Zellen in einem Tröpfchen von ca. 1 mm Durchm. auf das in ein Deckgläschen eingeritzte Quadrat gebracht. Der Farbstoff wirkte 1 Minute ein. Nach der mikroskopischen Feststellung, daß tatsächlich keine Sporen in dem Präparat vorhanden waren, wurde das ausgeschnittene Quadrat mit den gefärbten Bakterien wie bei der Einsporenkultur in Blutbouillon übertragen. Es ergab sich, daß unter insgesamt 156 Versuchen, bei denen durchschnittlich etwa 3500 Zellen untersucht sein mögen, in keinem einzigen Falle Vermehrung beobachtet werden konnte. Ob sich die Anaëroben gegen andere Farbstoffe anders verhalten, mag dahingestellt bleiben; Viktoriablau und Methylviolett scheinen jedenfalls eine vollkommene Abtötung der vegetativen Formen zu bewirken. Dies Ergebnis müßte noch durch große Versuchsserien gesichert werden. Um jeden Zweifel auszuschließen, wird man nur solche Präparate benutzen, die neben der Spore keine Stäbchen enthalten.

Möglichst vollkommene Versporung der Stämme ist für die Einzellkultur sehr erwünscht. Ich suchte deshalb in weiteren Versuchen die günstigsten Versporungsbedingungen für die Anaëroben im einzelnen festzustellen.

Smidt fand, daß bessere Wachstumsbedingungen auch die Sporulation begünstigen, die überdies nach Angabe des Autors durch Zufuhr minimaler Mengen von Sauerstoff noch günstig beeinflußt werden kann. Traubenzuckerzusatz hemmt die Sporenbildung. Hempl-Heller konnte in koaguliertem Serum besonders gute Versporung des Tetanusbazillus feststellen. Dozier gibt als optimale Wasserstoffionenkonzentration für den Botulinus-Bazillus p_H 6,0—8,2 bei vegetativen Formen und p_H 6,0—7,2 bei Sporen an. Nach Reddish und Rettger liegt das Wachstumsoptimum für die meisten Anaerobenarten bei p_H 7,0.

Es kommen nach Angabe dieser Autoren hauptsächlich zwei Faktoren in Betracht, die für den Versporungsgrad der Stämme von Be-

deutung sind, der Eiweißreichtum des Nährbodens und die Wasserstoffionenkonzentration. Es darf allerdings nicht verschwiegen werden, daß namhafte Anaërobenforscher, wie Zeißler, der Wasserstoffionenkonzentration jede Bedeutung für die Versporung absprechen.

In den folgenden Versuchsserien ist die Feststellung des günstigsten Eiweißgehaltes Gegenstand der Untersuchung.

Als Ausgangsmaterial diente bei allen Stämmen eine zweitägige Blutbouillonkultur. Der Inhalt der Reagenzgläschen betrug 12 ccm. Mit Rücksicht auf die Einheitlichkeit der Versuchsbedingungen wurden sämtliche in dieser Arbeit angesetzten Röhrchen mit Vaseline überschichtet. Bei den Serumversuchen wurde einmal reines Menschenserum benutzt, das bei 70° erstarrt war; in den anderen Versuchen wurde zu gewöhnlichem Nähragar Serum im Verhältnis 6:6, 9:3 und 10,5:1,5 zugesetzt. Die Gesamtkonzentration des Agars betrug 2,5 Proz., der pH-Wert bei allen Versuchen 7,8, und zwar aus folgendem Grunde: Es stellte sich bei Vorversuchen mit verschiedenem pH heraus, daß in der Gegend des Neutralpunktes gute Versporung eintrat. Wenn nun in diesen Versuchen neutrale Reaktion hergestellt worden wäre, so würden sich die durch den Eiweißgehalt etwa hervortretenden Unterschiede verwischen. Bei pH 7,8 neigen die Anaëroben bereits so wenig zur Versporung, daß der Einfluß des Eiweißzusatzes auf die Sporenbildung deutlich in Erscheinung tritt. Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration geschah teils mit dem Keilkolorimeter nach Bjerrum-Arrhenius, teils mit der Gaskette unter Verwendung der von Schmidt beschriebenen Chinhydronelektrode.

In Tabelle I sind die verschiedenen Stämme durch römische Ziffern bezeichnet, ebenso in den anderen Tabellen. Mäßige Versporung ist mit + bezeichnet (ca. 5—10 Sporen im Gesichtsfelde), ++ bedeutet, daß die Anzahl der Sporen und Stäbchen etwa gleich ist. Mit +++ sind die Versuche bezeichnet, in denen reichlich Sporen im Gesichtsfelde vorhanden sind, so daß ihre Zahl sich zu der Zahl der Stäbchen etwa wie 3:1 verhält. Das Zeichen —+ bedeutet, daß in mehreren Gesichtsfeldern nur hin und wieder eine Spore sichtbar ist. Die Darstellung in Kurvenform ist hier wegen der geringen Zahl der Werte auf der Abszisse (Serumkonzentrationen) nicht zweckmäßig. Jeder einzelne der in der Tabelle angegebenen Versuche wurde 5mal angesetzt, so daß 5 Versuchsserien zustande kamen. Nur in seltenen Fällen ereignete es sich, daß innerhalb einer Gruppe von 5 gleichartigen Versuchen abweichende Resultate gefunden wurden, die dann auch nur um 1° differierten. Die Mehrzahl war stets übereinstimmend, so daß die Darstellung des Ergebnisses der 5 Versuche in einer Rubrik der

Tabelle I.

Stamm		pH 7,8									
		nach 3 Tagen					nach 6 Tagen				
		Serum	Serumagar			Agar	Serum	Serumagar			Agar
			50 %	25 %	12,5 %			50 %	25 %	12,5 %	
Tetanus	I	+	+	+	— +	— +	+(++)	+	+	+	— +
	II	— +	— +	— +	—	—	— +	— +	— +	—	—
Botulinus	I	++	++	++	+	+	++	++	++	+(++)	+
	II	++	++	++	+	— +	++	++	++	++	+
	III	++	++	++	+	— +	+++	+++	+++	++	+
Malignes Oedem	I	+	+	+	— +	—	++	++	++	+	+
	II	+	+	+	+	+	++	++	++	+	+
	III	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	IV	++	++	+	+	— +	++	++	++	+	+
Putrificus	I	++	++	++(+)	+	— +	++	++	++	+	— +
	II	+	+	+	— +	—	++	++	++	+	—+(—)
	III	++	++(+)	++	— +	— +	++	++	++	+	+

Tabelle gerechtfertigt ist. Wenn sich also ergab, daß 4 Versuche einer Gruppe mit ++, 1 mit + oder +++ zu bezeichnen waren, so wurde (+) bzw. (+++) in Klammern daneben oder darunter gesetzt. Beobachtungen wurden nach 3 und 6 Tagen angestellt.

Aus Tab. I ist ersichtlich, daß der Serumgehalt des Agars deutlich bemerkbaren Einfluß auf die Versporung hat. Die Agarkontrolle läßt erkennen, daß der Serumzusatz von Vorteil ist. Es zeigt sich, daß 25 Proz. Serumgehalt ausreicht, da bei höheren Konzentrationen keine besseren Resultate erzielt werden.

Es ist auffällig, daß die Versporungstendenz der einzelnen Stämme in weiten Grenzen variiert. So zeigt z. B. Stamm III des malignen Oedems besonders üppige Versporung, während Stamm II des Tetanus trotz guter Wachstumsintensität, Ferment- und Toxinbildung nur sehr wenig zur Versporung neigt. Es müssen hier noch unbekannte Faktoren wirksam sein, für deren Erkenntnis vorläufig keine Anhaltspunkte bestehen.

Die Versuchsserie I wurde noch einmal bei pH 7,1 wiederholt. Ich verzichte der Raumersparnis wegen auf die Wiedergabe der diesbezüglichen Tabelle und möchte nur erwähnen, daß die Resultate sich mit den Ergebnissen der in Tab. II dargestellten Versuche bei pH 7,1 im allgemeinen decken (gute Versporung), nur zeigen einige Stämme, die ohne Serumzusatz mäßig versporen, hier bessere Versporung, so daß das Gesamtergebnis gleichmäßiger ausfällt. Es macht sich also auch in diesen Versuchen der Einfluß des Serumgehaltes bemerkbar, wenn auch nur in geringem Grade.

Im allgemeinen wird Serumagar in hoher Schicht zur Anaërobenzüchtung nicht verwendet, weil er sich infolge der Säuerung des Nährmediums in kurzer Zeit stark trübt und undurchsichtig wird. Durch Zusatz von NaCl, so daß die Gesamtkonzentration 2 Proz. beträgt, kann man es verhindern, daß beim Mischen des Agars mit dem Serum Fällungserscheinungen auftreten. Der Serumagar bleibt dann zunächst ziemlich klar durchsichtig und wird auch im weiteren Verlaufe der Kultur nicht so trübe, wie die Mischung ohne NaCl-Zusatz. Ein Gehalt von 2 Proz. NaCl ist im übrigen für das Wachstum der Bakterien ganz unschädlich.

Empfehlenswert ist auch der Alkalialbuminatnährboden nach **Klein**, der etwas durchsichtiger als der Serumagar ist und zudem noch den Vorteil bietet, daß er sterilisiert werden kann, da das Serum nach der Ueberführung seiner Eiweißbestandteile in Alkalialbuminat nicht mehr gerinnt. Die Züchtung der Anaëroben ergab mir in diesem Nährboden bezüglich der Versporung etwa dieselben Resultate wie im Serumagar.

Außerdem setzte ich 2 weitere Versuchsserien bei pH 7,8 und 7,1 mit einem Alkalialbuminatnährboden (aus Albumen ovi siccum) an, der in folgender Weise bereitet wird:

Es wird eine 8proz. Lösung von Albumen, entsprechend dem Eiweißgehalte des Serums, in 1,5proz. Natronlauge hergestellt, die man 2 Tage im Brutschrank digerieren läßt. Nach Filtration wird mit HCl bis nahe an den Neutralpunkt neutralisiert und mit primärem Kaliumphosphat auf pH 7,1 eingestellt. Die Lösung wird nun zu gleichen Teilen mit 5proz. Neutralagar gemischt; es entsteht ein 4proz. Alkalialbuminagar mit 2,5proz. Agargehalt, der vollkommen klar durchsichtig ist und sich im Verlaufe der Kultur nicht trübt.

Die Züchtungsergebnisse, die hier ebenfalls der Raumersparnis wegen nicht in Tabellenform angegeben sind, waren etwas besser, als

bei Verwendung von Serumagar. Es ist sehr zu empfehlen, diesen Nährboden in der Praxis in allen den Fällen zu benutzen, in denen man Serumagar anzuwenden beabsichtigt.

Ungleich bessere Resultate wurden bei der Züchtung in Blutbouillon und Hirnbrei erhalten, deren Ergebnisse in Tabelle II niedergelegt sind. Zum Vergleiche ist hier auch noch das Ergebnis der Versporung in Tarozzi-Bouillon und einfacher Nährbouillon aufgenommen. Blutbouillon und Hirnbrei wurden nach der Zeißlerschen Vorschrift hergestellt. Der Ausgangs-pH-Wert betrug bei allen Versuchen ebenfalls 7,8 und 7,1. Die Zeichen bedeuten dasselbe wie in Tab. I. Mit ++++ sind die Versuche bezeichnet, in denen weitgehende Versporung eingetreten ist, so daß nur einzelne vegetative Formen im Gesichtsfelde vorhanden sind, ein Ergebnis, das neu hinzukommt und bei den Versuchen mit festen Nährböden niemals eingetreten ist. Ebenso wie bei Versuchsserie I wurde jeder Versuch 5mal wiederholt. Das bei Tab. I über die Notierung der Resultate Bemerkte gilt auch hier. Es ereignete sich bei einigen Gruppen, daß mehr als ein Versuch einer Gruppe ein abweichendes Ergebnis hatte. Diese Abweichungen sind ebenfalls in die Tabelle aufgenommen. Im allgemeinen ist zu bemerken, daß die Beobachtungen wohl subjektiv Fehlerquellen haben mögen. Der Ausgleich wird durch genügend große Versuchszahl geschaffen, die dann eine recht brauchbare Uebersicht über die Versporungsverhältnisse bietet.

Tabelle II.

Stamm		pH 7,8				pH 7,1			
		Blutbouillon	Hirnbrei	Tarozzibouillon	Bouillon	Blutbouillon	Hirnbrei	Tarozzibouillon	Bouillon
Tetanus	I	+++	+	− + (−)	−	+++	++	+	+
	II	+	−	−	−	+	− +	−	−
Botulinus	I	++++	++	+ (− +)	+	++++	+++	++	++
	II	++++	+++	+ (− +) (− +)	+ (− +)	++++	+++	+++	++
	III	++++	+	− + (+)	− +	++++	++	++ (+++)	+++
Malignes Oedem	I	++++	++ (+)	+	+ (− +) (− +)	++++	+++	+++	+++
	II	++++	++	+ (−)	+	++++	++	++	++ (+++)
	III	++++	+++	++	++	++++	+++	+++	+++
	IV	++++	+	− +	− +	++++	+++	+++ (++)	+++
Putrificus	I	++++	+	− +	− + (−) (+)	++++	+++	++	++
	II	++++	+	− (− +)	− + (−)	++++	++	++	++
	III	++++	++	− +	− +	++++	+++	++	+++ (++)

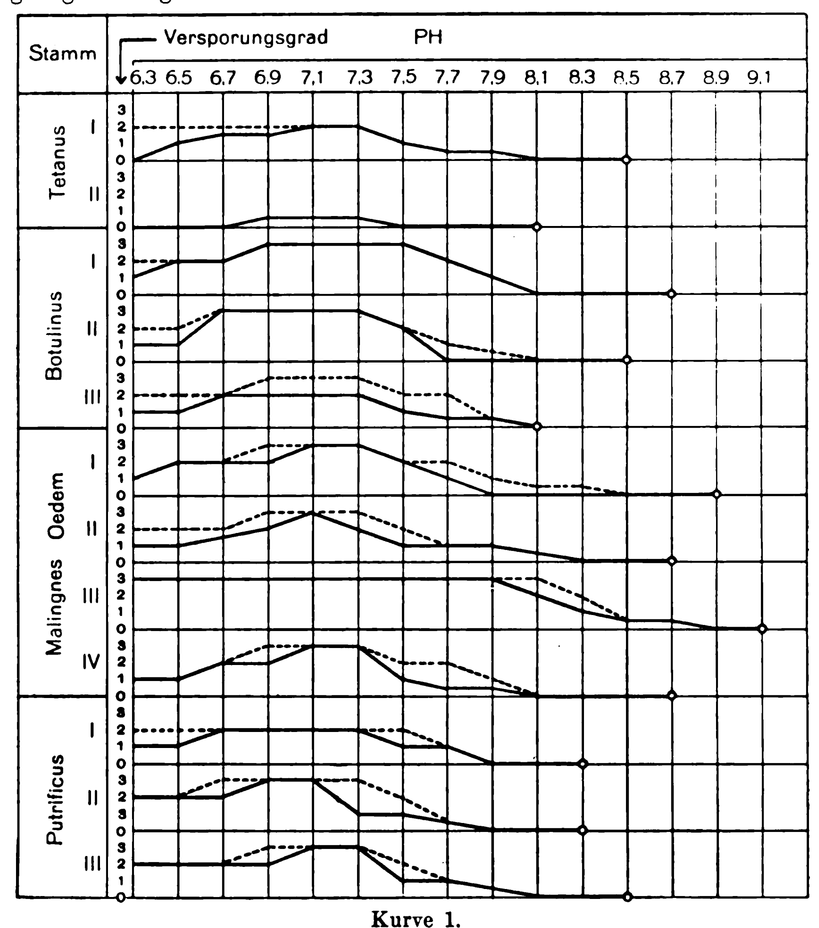
Aus der Tab. II geht hervor, daß die Reaktion der Nährflüssigkeit bei den Versuchen mit Blutbouillon für den Ausfall der Resultate von relativ geringer Bedeutung ist. Der Einfluß der Reaktion macht sich schon deutlicher bei den Hirnbreiversuchen bemerkbar und ist für das Ergebnis der Züchtung in den anderen Nährflüssigkeiten ausschlaggebend. In diesen ist außerdem, wie bei den Versuchen mit festen Nährböden, die recht ungleichmäßige Versporungstendenz bemerkenswert. Die Versuche mit Nährflüssigkeiten zeigen, daß die Blutbouillon das zuverlässigste Medium ist, wenn es darauf ankommt, gute und gleichmäßige Versporung zu erhalten.

Da in den flüssigen Nährmedien, außer Blutbouillon und Hirnbrei, keine Substanzen anwesend sind, die den Sauerstoff entfernen, ist eine Ueberschichtung mit Paraffinum liquidum notwendig. Vaseline ist für diesen Zweck noch zu bevorzugen, wie man sich durch folgenden einfachen Versuch überzeugen kann: 2 Reagenzgläschen werden bis zur Hälfte mit 10proz. Kalilauge gefüllt, das eine mit Paraffin, das andere mit Vaseline überschichtet und ca. 15 Min. im kochenden Wasserbade gehalten, um die Luft auszutreiben. Mittels einer Kapillare wird nun durch das Ueberschichtungsmedium hindurch eine Lösung von Acidum pyrogallicum hineingegeben. Das paraffinüberschichtete Röhrchen färbt sich nach einigen Tagen tief dunkel, das andere bleibt farblos. Kahn kommt neuerdings auch wieder auf Grund zahlreicher Versuche zu dem Ergebnis, daß die Vaseline die besten anaëroben Bedingungen schafft. Daher wurde, wie oben erwähnt, ausschließlich Vaseline als Ueberschichtungsmedium bei den Versuchen dieser Art benutzt. Es ist notwendig, wiederholt auf diese Verhältnisse hinzuweisen, da die Mißstände in der Praxis der Anaërobenzüchtung, die sich durch Einbürgerung der alten Methoden ergeben, immer noch nicht behoben sind.

Ich möchte an dieser Stelle einen kleinen Kunstgriff erwähnen, den ich bisher noch nicht beschrieben gefunden habe und mit dessen Hilfe es gelingt, aus überschichteten Kulturen Flüssigkeit zu entnehmen, ohne daß diese durch das Ueberschichtungsmittel verunreinigt wird. Es ist bekanntlich selbst bei geschicktester Handhabung nicht zu vermeiden, daß das Paraffin bei Entnahme mit einer Glaskapillare haftet und sich zum Teil mit dem austretenden Flüssigkeitstropfen mischt, was sich besonders störend bei der Färbung solcher Tropfen geltend macht. Ich gehe so vor, daß ich eine in der Flamme ausgezogene Glaskapillare von ca. 30—40 cm Länge durch die etwa 3 cm hohe Paraffinschicht schnell bis auf den Grund des Reagenzgläschens bringe. Dabei dringt vielleicht eine geringe Quantität des Paraffins unten in die Kapillare ca. 1—2 mm hoch ein. Nun wird angesaugt; die minimale Paraffinmenge wird dabei durch den Druck der angesogenen Flüssigkeit gehoben; diese wird 10—15 cm über den Rand des Reagenzglases hinaus angesogen, wobei die Kapillare natürlich immer mit dem unteren Ende auf dem Boden des Röhrchens bleibt; dann wird sie dicht oberhalb der Oeffnung des Reagenzglases mit der Hand oder mit sterilem Instrument abgebrochen, so daß das untere Ende, welches durch die Paraffinschicht in die Nährlösung taucht, im Reagenzglase stecken bleibt. Der aus dem abgebrochenen Teil der Kapillare austretende Tropfen ist vollkommen frei von Paraffinbeimengungen, da dieser Teil überhaupt nicht mit dem Ueberschichtungsmedium in Berührung gewesen ist. Es gelingt in derselben Weise, aus vaselinüberschichteten Kulturen Material zu entnehmen, nur muß die Vaselineschicht vor der Entnahme natürlich verflüssigt werden.

Als zweiter weit bedeutsamerer Faktor für den Versporungsgrad der Anaëroben kommt die Wasserstoffionenkonzentration in Betracht. Die diesbezüglichen Versuchsergebnisse sind in Kurven wiedergegeben. Es wurde von einer 2tägigen Blutbouillonkultur ausgegangen. Kulturmedium: gewöhnlicher Nähragar, in hoher Schicht beimpft, mit verschiedenen Alkalitäts- bzw. Säuregraden, pH 6,3—9,1. Auf der Abszisse sind die pH-Werte verzeichnet, auf der Ordinate der Grad der Versporung. Die Zahl 3 entspricht dem Zeichen +++ in Tab. I, 2 = ++, 1 = +, $^1/_2$ = —+. Die Versuchsserie wurde 6mal wiederholt. Da sich bei den einzelnen Versuchen wie in Serie I nur geringe Differenzen ergaben, geschah die Berechnung folgendermaßen: Wenn z. B. bei pH 7,5 in vier Versuchen Grad 3 und in zwei Versuchen der Grad 2 gefunden wurde, so ergibt die Berechnung $4 \times 3 + 2 \times 2 = 2^2/_3$. Die so erhaltene Zahl wurde auf der Ordinate aufgetragen. Die Kurve gibt außerdem noch Aufschluß über die Wachstumsgrenze der verschiedenen Stämme bei bestimmtem Alkalitätsgrade. Sie ist auf der Abszisse

durch einen kleinen Kreis angedeutet. Beobachtungen fanden nach 3 Tagen (ausgezogene Kurve) und 6 Tagen (gestrichelte Kurve) statt. Die Strecken, auf denen die Kurven gleich verlaufen, sind einfach ausgezogen dargestellt.



Kurve 1.

Während bei den Versuchen mit Serumagar der Einfluß des Eiweißzusatzes nicht von ausschlaggebender Bedeutung war, so daß die Versporung der einzelnen Stämme recht ungleichmäßig ausfiel, ist aus den Kurven zu ersehen, daß der pH-Wert des Nährbodens in erster Linie für die Versporung maßgebend ist. Die Ergebnisse bestätigen die Angabe von Reddish und Rettger, welche das Wachstumsoptimum der Anaëroben bei pH 7,0 fanden. Aus meinen Versuchen geht hervor, daß auch das Versporungsoptimum etwa bei pH 7,1 liegt. Geringe Säuregrade sind ebenfalls günstig, während schon relativ schwach alkalische Reaktion die Versporung sehr ungünstig beeinflußt. Daraus ergibt sich für die Praxis, daß bei Züchtung der Anaëroben in hoher Schicht nur neutraler Nähragar Verwendung finden sollte. Eiweißzusatz ist nicht so notwendig, da hierdurch keine wesentlich bessere Versporung erreicht wird, als in gewöhnlichem Nährboden neutraler

Reaktion. Noch weit bessere Versporung wird freilich in Blutbouillon erzielt, die deshalb ausschließlich zu den Einzellkulturen benutzt wurde. Zudem begünstigt dieses Medium die Vitalität und Wachstumsintensität der Anaëroben in besonderem Maße.

Zum Schluß mögen die Ergebnisse der Einzellkulturen in Tab. IV kurz dargestellt werden. Unter insgesamt 300 Versuchen sind 72 positiv ausgefallen. Neben zahlreichen Vorversuchen zur Vervollkommnung technischer Einzelheiten wurde jeder Stamm in 25 Versuchen geprüft.

Tabelle IV.

Von 25 Einzelversuchen gingen an bei											
T I	T II	B I	B II	B III	M I	M II	M III	M IV	P I	P II	P III
2	—	8	7	6	4	5	12	8	7	7	6

T = Tetanus, B = Botulinus, M = Malignes Oedem, P = Putrificus.

Abgesehen von Stamm III des malignen Oedems, der besonders lebenskräftig war und Stamm II des Tetanus, kann man demnach im allgemein damit rechnen, daß unter vier Versuchen einer positiv ausfällt. Das Ergebnis deckt sich ungefähr mit den Resultaten, die nach der Barberschen Einzelltechnik erzielt wurden. (Stärin züchtete, wie oben erwähnt, unter 800 Kulturen 253mal den Bacillus Botulinus in reiner Linie.)

Der Umstand, daß ein Teil der Sporen nicht angeht, ist meines Erachtens nicht dadurch zu erklären, daß diese Sporen durch den Farbstoff geschädigt sind. Diese Annahme wird dadurch gestützt, daß sich sämtliche Einzellkulturen hinsichtlich der Morphologie, Geißelbildung, Wachstumsintensität, Fermentbildung und Virulenz als biologisch vollwertig erwiesen. Die nicht zur Entwicklung gelangten Sporen werden daher wohl schon vor dem Versuch infolge der Produktion autolytischen Fermentes nicht mehr lebensfähig gewesen sein.

Für freundliche Ueberlassung der in dieser Arbeit benutzten Anaërobenstämme, soweit sie nicht im hiesigen Institute aus eingesandtem Material gezüchtet wurden, möchte ich Herrn Dr. Zeißler, Altona, sowie den Hygienischen Instituten in Breslau und Kiel und dem Robert Koch-Institut meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Zusammenfassung.

1) Es werden eingangs die verschiedenen Einzellmethoden besonders mit Rücksicht auf die Eignung zur Einzellkultur der anaëroben Bakterien kurz bewertet, unter denen das Barbersche Verfahren, welches den Anforderungen moderner Technik gerecht wird, an erster Stelle genannt zu werden verdient. — 2) Anschließend wird eine neue Methode zur Einsporenkultur der Anaërobier beschrieben. Das Verfahren gestaltet sich so, daß feinste Tröpfchen einer möglichst vollkommen versporten Kultur auf ein mit dem Schreibdiamanten quadriertes Deckglas übertragen werden; nach Färbung (ohne vorherige Flammenfixation) bleiben die Sporen bei geeigneter Behandlung je nach Alter und Entwicklungsstadium am Leben. Unter dem Mikroskop erscheint dann

nur die Hülle gefärbt, während das Zentrum farblos bleibt. Es wird nun dasjenige Quadrat des Deckgläschens, welches nur eine Spore enthält, mit dem Diamanten herausgeschnitten und in Blutbouillon übertragen. — Die Arbeit wird durch möglichst weitgehende Versporung der Ausgangskultur erleichtert; es galt daher, die für die Versporung günstigsten Faktoren im einzelnen zu ermitteln. Dabei ergaben sich folgende Resultate: — 3) Eiweißreiche Nährmedien (Serumagar, Serum-Alkalialbuminatagar) fördern die Sporulation, aber nicht in besonderem Maße. Ein Zusatz von 25 Proz. Serum erwies sich als ausreichend. — 4) Etwas günstigere Ergebnisse wurden bei Verwendung eines Alkalialbuminatagars aus Albumen ovi siccum erzielt, der, abgesehen davon, daß er sterilisierbar ist, noch den Vorteil bietet, daß er im Laufe der Kultur vollkommen klar durchsichtig bleibt. — 5) In Blutbouillon wird die weitaus beste und gleichmäßigste Versporung der Stämme beobachtet. In diesem Kulturmedium tritt sogar die Bedeutung der Reaktion des Nährbodens zurück. — 6) Die Wasserstoffionenkonzentration ist in allen Nährmedien außer der Blutbouillon für die Sporenbildung in erster Linie maßgebend. — 7) Das Versporungsoptimum liegt für die meisten Anaërobenstämme bei p_H 7,1. Schwach saure Reaktion ist noch günstig, relativ geringe alkalische Reaktion beeinträchtigt die Sporenbildung. — 8) Die Einsporenkultur hatte unter 300 Versuchen mit 12 Anaërobenstämmen (5 verschiedenen Arten) 72mal ein positives Ergebnis. Ein Tetanusstamm versagte, ein Stamm des malignen Oedems entwickelte sich besonders gut. — 9) Man kann damit rechnen, daß bei genügend großer Versuchszahl unter vier Versuchen einer positiv ausfällt. Dies Resultat deckt sich mit demjenigen Starins, der nach der Barberschen Technik arbeitete. Die Einsporenmethode leistet demnach dasselbe, wie das Barbersche Verfahren. — 10) Die Sporen, welche überhaupt angehen, werden durch die Anfärbung nicht geschädigt. Die daraus hervorgehenden Stäbchen erweisen sich hinsichtlich der Morphologie, der Begeißelung, der Wachstumsintensität, der Fermentbildung und Virulenz als biologisch vollwertig.

Literatur.

1) Barber, M. A., Philippine Journ. of Sc. Vol. 8. 1913. No. 5. Sec. B. — 2) Ders., Ibid. Vol. 9. 1914. No. 4. Sec. B. — 3) Bengtson, Public health Reports. Vol. 38. 1923. No. 8. — 4) Burri, Das Tuscheverfahren. Jena 1909. — 5) Ders., Das Arbeiten mit der einzelnen Bakterienzelle unter mikroskopischer Kontrolle. (Handb. d. mikrobiol. Techn. von Kraus-Uhlenhuth. Bd. 2. Berlin 1923.) — 6) Chambers, Journ. of infect. Dis. Vol. 31. 1922. No. 4. — 7) Dozier, Ibid. Vol. 35. 1924. No. 2. — 8) Gotschlich, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. (Bericht üb d. 10. Tagung der Dtsch. Vereinig. f. Mikrobiol. in Göttingen. 1924.) — 9) Heim, Lehrbuch der Bakteriologie. 5. Aufl. 1918. — 10) Hempl-Heller, Bot. Gaz. Vol. 73. 1922. — 11) Ders., Journ. of infect. Dis. Vol. 30. 1922. No. 1. — 12) Kahn, M. C., The Journ. med. Res. Vol. 43. 1922. — 13) Klein, Dtsch. med. Wochenschr. 1920. No. 11. — 14) Knorr, Centralbl. f. die ges. Hyg. Bd. 4. 1923. H. 2. — 15) Kolle, Veröffentlich. a. d. Geb. d. Militärsanitätswes. Bd. 71. 1918. — 16) Kolle, Ritz u. Schloßberger,

Med. Klinik. 1918. No. 12. — 17) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 4. Aufl. Berlin 1905. — 18) Mutch, Journ. of Roy. Microsc. Soc. Vol. 3. 1919. Sept. — 19) Oerskov, Journ. Bacteriol. Vol. 7. 1922. No. 6. — 20) Reddish and Rettger, Ibid. Vol. 9. 1924. No. 1. — 21) Schmidt, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 96. 1925. — 22) Schmidt, Klin. Wochenschr. 1925. Nr. 36. — 23) Schouten, Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 22. 1905. — 24) Smidt, Journ. of Hyg. Vol. 22. 1924. No. 3. — 25) Starin, Journ. Infect. Dis. Vol. 34. 1924. No. 2. — 26) Thurn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. — 27) Zeissler, Menschl. Wundinfektion und Tierseuchen. Berlin 1920. — 28) Ders., Die Technik der Anaërobenzüchtung. (Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus-Uhlenhuth. Bd. 2. Berlin 1923).

Nachdruck verboten.

Parisergrün als Anopheles-Larvizid.

[Aus der Malariaabteilung des Swerdlowsker Bakteriologischen Instituts (Direktor Prof. Dr. J. J. Stepanow-Grigorjew, Abteilungsleiter Dr. O. Herrmann).]

Von Dr. **O. Herrmann**, Prof. **J. Kolossow** und **N. Lipin.**

Das von Barber und Hayne[1]) als Anopheles-Larvizid erprobte Parisergrün wurde unsererseits in Gemischen mit Staub und Lehm in Verdünnungen von 1:100 bis 1:2000 (50 g pro Quadratfaden oder

Tabelle I (Laboratoriumsversuche).
Gemisch von durchgesiebtem Straßenstaub + Parisergrün.
Dosierung: 11—12 g pro 1 qm (50 g pro 1 Quadratfaden) der Wasserfläche.

Beobachtungszeit	Gemisch 1:100								Gemisch 1:200			Bemerkungen
	Versuch I 14. 8. 25		Versuch II 18. 8. 25		Versuch III 19. 8. 25		Versuch IV 21. 8. 25		Versuch V 19. 8. 25	Versuch VI 21. 8. 25		
	Anoph.-Larven lebend		Anoph.-Larven lebend		Anoph.-Larven lebend		Anoph.-Larven lebend		Junge Anoph.-Larven lebend	Anoph.-Larven lebend		
	junge	erwachsene	junge	erwachsene	junge	erwachsene	junge	erwachsene		junge	erwachsene	
0 (Anfang)	2	8	8	2	8	2	8	2	10	6	4	Vers. I. Regenwasser, welchem Algen
nach 15′	2	8	8	2	8	2	8	2	10	6	4	zugesetzt wurden. Außer erwähnten
„ 30′	2	8	8	2	8	2	8	2	10	6	4	Anoph.-Larven noch 4 Gerrislarven
„ 45′	2	8	8	2	8	2	8	2	10	6	4	u. 1 Ex. Corixa imago in d. emaill.
„ 1h	2	8	8	2	8	2	8	2	10	6	4	Becken gebracht, auf welche das
nach 1h 15′	2	8	7	2	8	2	8	2	10	6	4	Parisergrün keine Wirkung ausübte.
„ 1h 30′	2	8	7	2	8	2	7	1	10	6	4	Vers. II. Regenwasser + Algen. Tp.
„ 1h 45′	2	8	6	2	6	2	6	0	8	6	4	20° C. Glasbehälter. Auf 2 Zygo-
„ 2h	2	8	3	2	5	1	2	.	7	6	3	pteralarven keine Wirkung.
„ 2h 15′	2	8	3	2	4	1	2	.	6	5	2	Vers. III. Regenw. + Alg. Tp. 20,5° C.
„ 2h 30′	2	6	0	2	3	1	0	.	5	4	2	Emaill. Becken. Auf Ephemera- u.
„ 2h 45′	.	.	.	0	1	1	.	.	3	1	2	Zygopteralarven keine Wirkung.
„ 3h	.	.	.	.	1	0	.	.	1	0	0	Vers. IV. Regenw. + Alg. Tp. 20° C.
„ 3h 15′	.	.	.	.	0	.	.	.	0	.	.	Emaill. Becken.
												Vers. V wie Vers. III.
												Vers. VI. Regenw. + Algen. Tp.
„ 18h 30′	0	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	20° C. Emaill. Waschbecken. Auf
												1 Culicinipuppe keine Wirkung.

1) Barber and Hayne, U.S Public Health Reports. Vol. 36. 1924. Nr. 49.

ca. 11—12 g pro Quadratmeter) untersucht, da uns in Anbetracht der Giftigkeit dieses Stoffes daran gelegen war, eine möglichst große, jedoch wirksame Verdünnung desselben zu erreichen [1]).

Im Laboratorium wurden 17 (Tab. I u. II) und im Freien 9 Versuche gemacht (Tab. III).

Tabelle II. (Labo-

Gemisch: Pulverisierter

Dosierung: 11—12 g pro

(Die in der Tabelle angegebenen Zahlen beziehen

Beobachtungszeit	Gemisch 1 : 100		Gemisch 1 : 200				Gemisch 1 : 300		Gemisch 1 : 500		Gemisch 1 : 1000			
	Vers. VII 22. 8. 25		Vers. VIII 22. 8. 25		Vers. IX 25. 8. 25		Vers. X 25. 8. 25		Vers. XI 25. 8. 25		Vers. XII 28. 8. 25		Vers. XIII 1. 9. 25	
	Larven lebend		Larven lebend		erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend
	junge	erwachsene	junge	erwachsene										
0 (Anfang)	6	4	7	3	10	2	10	2	10	2	9	2	10	2
nach 15′	6	4	7	3	—	—	—	—	10	2	—	—	—	—
„ 30′	6	4	7	3	—	—	—	—	10	2	—	—	—	—
„ 45′	6	4	7	3	—	—	—	—	10	2	—	—	—	—
„ 1h	6	4	7	3	—	—	—	—	10	2	—	—	—	—
nach 1h 15′	6	4	7	3	—	—	—	—	10	2	—	—	—	—
„ 1h 30′	6	3	7	3	9	2	—	—	10	2	—	—	—	—
„ 1h 45′	4	2	6	2	—	—	—	—	9	2	—	—	—	—
„ 2h	3	2	4	1	4	2	—	—	9	2	—	—	—	—
„ 2h 15′	0	1	2	0	3	2	4	2	9	2	5	2	—	—
„ 2h 30′	.	1	2	.	2	2	4	2	—	—	5	2	—	—
„ 2h 45′	.	1	1	.	2	2	2	2	—	—	3	2	—	—
„ 3h	.	1	0	.	1	2	1	2	—	—	3	2	—	—
„ 3h 15′	.	1	.	.	1	2	1	2	3	2	3	2	—	—
„ 3h 30′	.	0	.	.	1	2	1	2	3	2	3	2	—	—
„ 3h 45′	.	.	.	.	1	2	1	2	3	2	—	—	—	—
„ 4h	.	.	.	.	1	2	1	2	2	2	2	2	—	—
„ 4h 15′	.	.	.	.	—	—	—	—	—	—	1	2	—	—
„ 5h 40′	.	.	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2
„ 19h	.	.	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—	0	2
„ 20h 40′	.	.	.	.	—	—	—	—	—	—	0	0	.	—
„ 22h 30′	.	.	.	.	0	2	0	2	0	2	.	.	.	—
„ 24h 30′	.	.		.	.	—	.	.	.	—	.	.	.	2
„ 25h 15′	.	.	.	.	.	—	.	.	.	—	.	.	.	.
„ 43h 10′	.	.	.	.	.	—	.	.	.	2	.	.	.	1 ♂
„ 53h	.	.	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	2♂♂
„ 94h 30′	.	.	.	.	.	2	.	1♂,0	.	0	.	.	.	.
„ 103h 45′	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	.

1) Die detaillierte Arbeit wird in einer russischen Zeitschrift erscheinen.

2) **Das in den Versuchen XVI und XVII angewandte Wasser wurde 25^h 25**

Aus den Laboratoriumsversuchen geht hervor, daß Verdünnungen 1:100 bis 1:1000 beinahe immer die Larven in 2 Std. 15 Min. bis 5 Std. 40 Min. töten, und zwar je größer die Verdünnung, desto langsamer ist die Wirkung. Etliche Exemplare, welche während dieser Zeit noch am Leben blieben, wurden am anderen Tage tot aufgefunden.

ratoriumsversuche).

Lehm + Parisergrün.

1 qm der Wasserfläche.

sich nur auf Anopheleslarven und -puppen).

Gemisch (1:1000) doppelt		Gemisch 1:2000		Kontrollversuche ohne Gemisch				Bemerkungen
Vers. XIV 28. 8. 25		Vers. XV 1. 9. 25		Vers. XVI 1. 9. 25		Vers. XVII 1. 9. 25		
erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	erwachsene Larven lebend	Puppen lebend	
10	2	10	2	10	2	10	2	Versuch VII. Regenwasser + Algen. Tp. 19° C. Emaillebecken
—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	Versuch VIII. Regenwasser + Algen. Tp. 19° C. Emaillebecken. Auf eine Culicinilarve keine Wirkung.
—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	Versuch IX, X, XI. Regenwasser + Algen. Tp. 17° C. Glasbehälter.
—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	Versuch XII. Emaillebecken. Eine erwachsene Culicinilarve wurde nach 20h 40′ tot vorgefunden.
4	2	—	—	—	—	—	—	
4	2	—	—	—	—	—	—	
4	2	—	—	—	—	—	—	
4	2	—	—	—	—	—	—	Versuch XIII und XV. Flußwasser + Algen. Tp. 17° C. Glasbehälter.
3	2	—	—	—	—	—	—	
3	2	—	—	—	—	—	—	Versuch XIV. Emaillebecken. Eine junge Culicinilarve lebte noch nach 20h 40′.
3	2	—	—	—	—	—	—	
3	2	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	Versuch XVI. Flußwasser + Algen und etwas Lemna. Tp. 17° C. Emaillebecken.
—	—	4	3	9	3	10	2	
—	—	3	3	7	5	6	6	Versuch XVII. Flußwasser ohne Algen. Emaillebecken. In diesem Wasser, wie auch im Versuch XVI wurde mikroskopisch eine große Menge des Phytoplanktons vorgefunden.
0	1	—	—	—	—	—	—	
.	.	—	—	—	—	—	—	
.	.	1	3	7	5	6	6	
.	.	—	—	13	11²)	.	.	
.	.	0	3	1	12	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	
.	.	.	.	.	.	.	.	

nach Beginn derselben zusammengegossen. Eine Culicinilarve lebte noch nach 43h 10′

Tabelle III (Versuche im Freien).

Wassertümpel		Gemisch: Parisergrün + Lehm			Anzahl der Anopheleslarven und -Puppen auf 10 Proben																	Anzahl der An.-Larven u. Puppen auf 10 Proben							
					Vor der Vergiftung am 9. 9. 25				1. Kontrolle 11. 9. 25				2. Kontrolle 12. 9. 25				3. Kontrolle 16. 9. 25				2. Vergiftung am 16. 9. 25 sofort nach der 3. Kontrolle	4. Kontrolle 18. 9. 25				5. Kontrolle 23. 9. 25			
					Larven				Larven				Larven				Larven					Larven				Larven			
Nr.	Oberfläche des Wassers in Quadratfaden	Dosierung	Gewicht in g	Gew. d. Parisergrüns in g	junge	halb-erwachs.	erwachs.	Puppen	junge	halb-erwachs.	erwachs.	Puppen	junge	halb-erwachs.	erwachs.	Puppen	junge	halb-erwachs.	erwachs.	Puppen		junge	halb-erwachs.	erwachs.	Puppen	junge	halb-erwachs.	erwachs.	Puppen
1	20	1:500	1300	2,6	1	—	3	—	—	—	—	2	—	0,6[1]	0,6	—	0,6	—	—	—	Lehm 1000 g + Parisergr. 2 g (1:500)	0,6	—	—	—	—	—	—	—
2	10	1:250	750	3	6	0,6[1]	5,3	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Zum 2. Mal nicht vergiftet	—	—	—	—	—	0,6	—	—
3	10	1:100	500	5	3	3	11	1	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	dgl.	0,6	—	—	1,3	—	—	—	—
4	1	1:100	50	0,5	1	1	12	3	—	—	—	—	—	—	—	0,6	—	—	—	—	„	—	—	—	—	—	—	—	—
5	5	1:100	200	2	8	4	9	1	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1,3	Lehm 250 g + Parisergr. 2,5 g (1:100)	—	—	—	0,6	—	—	—	—
6	6	1:1000	300	0,3	4	2	5	3	—	—	—	—	2,6	1,3	0,6	0,6	—	—	—	—	Zum 2. Mal nicht vergiftet	0,6	—	—	—	0,6	—	—	—
7	1	1:1000	50	0,05	—	—	4	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	dgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
8[2] Kontr. nicht vergiftet	2	—	—	—	—	—	1	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Nicht vergiftet	—	—	—	—	—	—	—	—
9 Kontr. nicht vergiftet	20	—	—	—	3 Larven auf 3 Proben				—	—	—	—	—	3	3	—	0,6	—	0,6	0,6	dgl.	—	3,3	4	0,6	—	4	2	—

1) Bruchzahlen deshalb, weil meistens 15 Proben genommen wurden, die Anzahl der vorgefundenen Larven und Puppen dagegen auf 10 Proben umgerechnet wurde. 2) Der Wassertümpel Nr. 8 vereinigte sich am 12. 9. 25 nach dem Regen mit dem Brutplatz Nr. 7, und ist es wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß im Tümpel Nr. 8 nachher keine Anopheleslarven mehr gefunden wurden.

Etwas langsamer wirkte das Gemisch 1 : 2000, jedoch auch dabei blieb nach 24 Std. 30 Min. von 10 Larven nur 1 am Leben, welche nach 43 Std. 10 Min. ebenfalls tot vorgefunden wurde.

Das Gemisch ist ebenso wirksam für die jungen wie für die erwachsenen Larven, da in einigen Versuchen die ersteren, in anderen wieder die letzteren zuerst zugrunde gingen.

Es ist vielleicht wider Erwarten auch nicht ganz harmlos für Anopheles-Puppen, da einige während der Versuche zugrunde gingen, aus anderen sogar nach 4 Tagen noch keine geflügelten Insekten ausschlüpften. Auch diese Puppen gingen danach zugrunde. Die Zahl dieser Versuche ist jedoch zu gering, als daß man daraus irgendwelche definitiven Schlüsse ziehen könnte.

Im Freien gelang es uns nicht, das Gemisch regelmäßig und vorteilhaft durch Ausstreuen mit der Hand zu verteilen, da dasselbe dabei beim geringsten Winde zur Seite geweht wurde. Ein großer Drahtring, mit Verbandgaze überzogen und an einem langen Stocke angebunden, hat das Ausstreuen aber ermöglicht.

Die Versuche im Freien zeigen, daß Parisergrün in Verdünnungen von 1:100—1:1000 die Larven erst in einigen Tagen tötet (Tab. III), da aber inzwischen aus den erwachsenen sich Puppen entwickeln können, auf welche das Gemisch entweder gar keine oder nur eine geringe Wirkung ausübt, so ist dies als ein sehr großer Nachteil zu betrachten.

Wie im Laboratorium, scheint auch im Freien unter natürlichen Verhältnissen das Parisergrün keine schädliche Wirkung auf die Larven der Culicini, Gerris, Zygoptera, Ephemera, Dixa und Imagies der Corixa auszuüben.

Um uns zu überzeugen, daß es in den angewandten Quantitäten für Tiere nicht schädlich ist, haben wir 3 Kaninchen täglich im Laufe von 2 Wochen Wasser zu trinken gegeben, auf welches wir für 2 Versuchstiere das Gemisch von 1:100 in üblicher Menge (11—12 g pro qm) für das 3. dagegen in doppelter Menge gestreut hatten. Die Kaninchen wurden zuerst täglich, dann allwöchentlich gewogen. Alle nahmen im Laufe von 1—$1^1/_2$ Mon. an Gewicht normal zu, jedoch bildete sich bei einem, welchem das Gemisch in üblicher Menge verabreicht wurde, ungefähr nach 1 Mon. Paralyse eines Hinterbeines, welches ausgespreizt zur Seite gehalten wird. Es sind schon 2 Mon. vergangen, die Paralyse ist aber ohne Veränderung geblieben.

Spontane Paralysen sind unter den Kaninchen sehr selten. Jedoch wurde bei uns bei einem solchen im Frühling 1925, als auf dem Markte längere Zeit kein Gemüse zu erhalten war, Paralyse beider Hinterbeine beobachtet, und zwar wurden dieselben ebenfalls ausgespreizt gehalten. Dieses Kaninchen wurde s. Zt. sofort isoliert und ging ungefähr 1 Mon. darauf zugrunde.

Da diese Versuchstiere stets gutes und genügend Futter erhielten und in neuen Käfigen saßen, in welchen vorher keine Kaninchen gehalten worden waren, ist es wohl nicht ganz ausgeschlossen, daß die Paralyse infolge einer allmählichen Vergiftung mit Arsenik entstanden ist.

Jedenfalls gebietet dieser Fall, noch viele weitere Versuchsreihen mit verschiedenen Haustieren und Geflügel anzustellen, um genügend aufzuklären, ob das Parisergrün wirklich für dieselben unschädlich ist, und zwar um so mehr, als dasselbe nach dem Ausstreuen manchmal tage-

lang auf der Oberfläche des Wassers in ziemlich dicken Streifen schwimmt.

Das Parisergrün scheint auch für den Operateur nicht ganz harmlos zu sein. Einer von uns (L.), welcher $12^1/_2$ kg des Gemisches vorbereitete, da ein Teich von ca. 250 Quadratfaden damit bestreut werden sollte, fühlte sich dabei leicht vergiftet (Kopfschmerzen, Schwindel, Uebelkeit).

Schlußfolgerung.

Das Parisergrün kann für gewöhnlich das Erdöl nicht ersetzen, da letzteres schnell wirkt, ziemlich billig ist und bequem und gefahrlos gebraucht werden kann.

Höchstens dann, wenn die Brutplätze zugleich Viehtränken sind, könnte man dieses Mittel empfehlen, wenn es sich in größeren Versuchsreihen als unschädlich erweisen sollte.

Nachtrag. Zu der Zeit, als die Korrektur bei uns eintraf, nämlich 5 Monate nach der Lähmung des oben angegebenen Kaninchens, war außer der Paralyse des Hinterbeines auch noch Torticolli vorhanden, welches vor ca 1 Monat zum Vorschein trat. Im Gewicht aber nimmt das Kaninchen immer noch zu (11. 8. 25 — 1320 g, 26. 9. 25 — 2110 g, 23. 2. 26 — 2450 g).

Berichtigung.

In der Abhandlung: „Ueber Paratyphus und Fleischvergiftung" von G. Elkeles: In den Abbildungen auf S. 351 und 352 der im letzten Heft (5/6) muß es heißen: links an septikämischer, rechts an toxischer Breslauinfektion gestorbene Maus.

Inhalt.

Brünn, W., Perorale Chininprophylaxe bei der Proteosoma-praecox-Infektion, S. 507.

v. Fenyvessy, B., u. **Kopp, H.**, Beiträge zur Aetiologie der Influenza, S. 477.

Gundel, M., Ueber das Vorkommen atypischer Bakterienstämme bei einer Paratyphus B-Epidemie. Mit 1 Kurve im Text, S. 444.

Herrmann, O., Kolossow, J., u. **Lipin, N.**, Parisergrün als Anopheles-Larvizid, S. 547.

Hoder, Friedrich, u. **Suzuki, Kiyoshi**, Ueber die Gewinnung von Bakteriophagen aus Pankreasextrakten, S. 433.

Kohn, Joseph, Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose, S. 460.

Huss, Harald, Weshalb fällt die Eijkmansche Gärprobe mit nitrathaltigem Wasser negativ aus? S. 526.

Kolf, Paul, Beitrag zur Frage der Abtrennung des Bacillus enteritidis Breslau gegen Paratyphus B-Bazillen, S. 453.

Landa, Ernst, Weitere Beiträge zur infektiösen Anämie der Ratte, S. 522.

Löwenberg, W., Studien zur Frage der serologischen Einheitlichkeit der Coli-Bazillen. S. 439.

Lusztig, Alexander, Die Wertbestimmung des Milzbrandserums. Mit 1 Abbildung im Text, S. 492.

Möhrke, W., Ein neues Verfahren zur Einsporenkultur anaërober Bakterien, nebst Bemerkungen über das Versporungsoptimum der Anaërobier. Mit 1 Kurve im Text, S. 533.

Otten, L., Die Differentialdiagnose zwischen den Erregern der hämorrhagischen Septikämien. (Bac. pestis, Pseudotuberculosis rodentium und Plurisepticus). Mit 2 Tafeln, S. 484.

Reiter, Hans, Versuche über die Beeinflussung der experimentellen Tuberkuloseerkrankung mittels „stummer Infektion". I. Mitteilung, S. 456.

Wirth, Erich, Der Erreger der akuten Mittelohrentzündung. Beitrag zur Bakteriologie des Streptococcus mucosus, S. 501.

Wurm, H., Ueber eine Milbenerkrankung der Lunge bei Macacus rhesus. Mit 6 Abbildungen im Text, S. 514.

Titel und Register zu Bd. 98.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5455

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 98 enthaltenen Arbeiten.

Alivisatos, G. P., Neue Erfahrungen bei der Schutzimpfung gegen Lyssa durch das ätherisierte „Virus fixe". 394
— u. **Jovanovic, M.,** Experimenteller Beitrag zur peroralen Immunisierung des Kaninchens gegen Ruhr. 311
Aoki, K., Ueber die agglutinatorische Analyse von Bakterien. 273
— u. **Sakai, Kikuo,** Agglutinatorische Einteilung von Pyocyaneusbazillen, welche bei verschiedenen Menschenerkrankungen nachgewiesen wurden. 186
— —, Bakteriologische Untersuchung bei Ausbruch einer Nahrungsmittelvergiftung in einer Seidenspinnerei. 145
Beniasch, M. G., u. Fraenkel, G. M., Versuch der Anordnung der WaR. nach der Methode von Kaup, nebst praktischen Anweisungen für Massenanwendung derselben. 177
Borowskaja, D., Zur Frage der Bereitung von hämolytischem Serum. 425
Brünn, W., Perorale Chininprophylaxe bei der Proteosoma-praecox-Infektion. 507
Declich, Melchiorre, Zur Biochemie der Meningokokken. 354
Demnitz, Albert, Ein Beitrag zur Rolle des B. proteus bei bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen. 141
Elkeles, Gerhard, Ueber Paratyphus und Fleischvergiftung. Experimentelle Untersuchungen zum Kulturbild und zur Pathogenität mit besonderer Berücksichtigung der Kieler Lehre. 326
Engelmann, Br., Weiterer Beitrag zur Frage der Einheit der Pneumokokken und Streptokokken. 304
v. Fenyvessy, B., u. Kopp, H., Beiträge zur Aetiologie der Influenza. 477
Fessler, Alfred, Filtrationsversuche an Tuberkelbazillen. 148
Fraenkel, G. M. s. **Beniasch, M. G.**
— u. **Jolkwer, E. E.,** Analyse der hämolytischen Deviabilitätseigenschaften des Komplements. 419
Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden, nebst Bemerkungen über Tabaniden, Simuliden und Chironomiden. 97
Geistfeld, Elisabeth, Beitrag zur Spirochätenforschung. Beobachtungen an Mundspirochäten. 42
Gerlach, F., Ueber eine neue Methode zur Herstellung von destilliertem Wasser auf elektro-osmotischem Wege. 125
Glusmann, M. s. **Kalmykowa, M.**
Goerttler, V., Kritische Prüfung der bakteriologischen Merkmale des Bact. pyosepticum viscosum equi. 227
Gundel, M., Ueber das Vorkommen atypischer Bakterienstämme bei einer Paratyphus B-Epidemie. 444
Haase, Werner, Ueber Allgemeininfektion bei Gonorrhöe mit zwei klinisch und autoptisch beobachteten Fällen. 163
Hayashi, T., Ueber einen neuen Paratyphusstamm (Sasaki-Stamm). 129
—, Ueber Paratyphus C. I. Mitteilung: Ueber die agglutinatorischen Beziehungen des Paratyphus C (Hirschfeld) einerseits und des atypischen Paratyphus A (Aoki) und der Hogcholerabazillen andererseits. 291

Hayashi, T., Ueber Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld). II. Mitteilung: Ueber die Variationserscheinungen der Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld). 296
—, Ueber Paratyphus C-Bazillen (Hirschfeld). III. Mitteilung: Ueber einen atypischen Paratyphusbazillenstamm, welcher in Japan nachgewiesen war. 300
—, Ueber Variationserscheinungen unseres neuen Paratyphusstammes (Sasaki-Stamm). 282
Herrmann, Otto, Die Vererbung der erworbenen Immunität. 81
—, **Kolossow, J.,** u. **Lipin, N.,** Parisergrün als Anopheles-Larvizid. 547
Hoder, Friedrich, u. **Suzuki, Kiyoshi,** Ueber die Gewinnung von Bakteriophagen aus Pankreasextrakten. 433
Hohn, Joseph, Die Kultur des Tuberkelbazillus zur Diagnose der Tuberkulose. 460
Horowitz-Wlassowa, L., Ueber die Komplementablenkungsreaktion bei der Tollwut. 216
Huss, Harald, Weshalb fällt die Eijkmansche Gärprobe mit nitrathaltigem Wasser negativ aus? 526
Jelin, W., Studien über den Mechanismus der natürlichen Immunität. IV. Mitteilung. 411
—, Zur Frage über den Mechanismus der natürlichen Immunität. III. Mitteilung. 86
Jolkwer, E. E. s. **Fränkel, G. M.**
Jovanovic, M. s. **Alivisatos, G, P.**
Kalmykowa, M., u. **Glusmann, M.,** Ueber den Nachweis virulenter Diphtheriebazillen durch die Intrakutangabe an Meerschweinchen mit der Ausgangsmischkultur. 308
Kersten, H. E., Zur Arbeit von H. Kapeller-Marburg „Ueber einen gelungenen Nachweis von Paratyphus B-Bazillen im Leitungswasser“. 7
Klingenstein, Rudolf, Ueber die Konstanz des Hämolysierungsvermögens bei Colibazillen. 94
Klopstock, Felix, Ueber die Komplementwirkung des Blutplasma. 100
Kolf, Paul, Beitrag zur Frage der Abtrennung des Bacillus enteritidis Breslau gegen Paratyphus B-Bazillen. 453
Kolossow, J. s. **Herrmann, O.**
Kopp, H. s. **v. Fenyvessy, B.**
Kovács, Nikolaus, Untersuchungen über die Technik der Anaërobenzüchtung. II. Mitteilung. 114
Kühnhold, Grete, Abnorme Formen von Malaria tertiana-Parasiten bei Impfmalaria. 113
Lauda, Ernst, Weitere Beiträge zur infektiösen Anämie der Ratte. 522
Licht, Hans s. **Quast, Gerhard.**
Lipin, N. s. **Herrmann, O.**
Löwenberg, W., Studien zur Frage der serologischen Einheitlichkeit der Colibazillen. 439
Lusztig, Alexander, Die Wertbestimmung des Milzbrandserums. 492
Mayer, Georg, Corynebacterium parvum infectiosum. 370
—, Zur Behandlung bakteriämischer und peritonitischer Erkrankungen. 372
Messerli, Fr. M., Contribution à l'étude de l'étiologie du goitre endémique. Goitres expérimentaux produits chez des rats blancs par alimentation avec de l'eau infectée. 378
Möhrke, W., Ein neues Verfahren zur Einsporenkultur anaërober Bakterien, nebst Bemerkungen über das Versporungsoptimum der Anaërobier. 533
—, Ueber einen Metallexsikkator zur Anaërobenzüchtung. 427
Nikanorow, S. M., Die Rolle der Kamele in der Epidemiologie der Astrachaner Pest. 24
Otten, L., Die Differentialdiagnose zwischen den Erregern der hämorrhagischen Septikämien. (Bac. pestis, Pseudotuberculosis rodentium und Plurisepticus.) 484
Pesch, Karl, L., Meningitis durch Bacterium enteritidis (Gärtner). 22
Quast, Gerhard, u. **Licht, Hans,** Ein Beitrag zur Frage des Entstehens der postvakzinellen Lähmungen bei Lyssa. 211
Rauch, Georg, Ueber den Einfluß verschiedener Reize auf den Komplementtiter bei Kaninchen. 246
Reiter, Hans, Versuche über die Beeinflussung der experimentellen Tuberkuloseerkrankung mittels „stummer Infektion“. I. Mitteilung. 456
Rosenberg, Rahel, Versuche zur Artdifferenzierung von gekochtem Eiweiß mittels der Präzipitinreaktion. 259
Rudolf, Johann, Beitrag zur Morphologie und Biologie des Galt-Streptokokkus, des Erregers der Mastitis katarrhalis-streptococcica des Rindes. 47
Ruge, Heinrich, Eine Nahrungsmittelvergiftung durch Sauerkraut. 18
Sabolotny, S. S., Zur Frage nach der Empfänglichkeit der weißen Mäuse für Rotz und ihrer diagnostischen Geltung. 37
Saito, T., Geflügelpockenkörperchen und Guarnierische Körperchen. 391
Sakai, Kikuo, Ueber eine Variationserscheinung bei einem Stamme der Paratyphus B-Gruppe, welcher bei einer Nahrungsmittelvergiftung nachgewiesen wurde. 9
Sakai, Kikuo s. **Aoki, K.**
Schmitz, Hermann, Bakteriologische Untersuchungen von Harn, Galle und Duodenalsaft. 407

Schumacher, Josef, Zur Chemie der Desinfektion und über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung. Zugleich ein Beitrag zur Vitalfärbung. 67
—, Zur Gramschen Färbung. Hat das der Grampositivität zugrunde liegende Lipoproteid der Hefezelle seinen Sitz in der Zellmembran oder im Protoplasma? 104
Simchowitz, Hermann, Ein hämolysierendes Bacterium coli mutabile. 278
Stolygvo, Nik., Zur Frage der Differenzierung der Streptokokken. 1
Suzuki, Kiyoshi s. **Hoder, Friedrich.**
Tada, S., Untersuchungen über das Vorkommen von Diphtheriebazillen in Vulva und Vagina von Gebärenden und Wöchnerinnen. 20
Takayanagi, Giichi, Ueber die agglutinatorische Beziehung der Hühnertyphusbazillen gegenüber Menschentyphusbazillen. 61
Tanner, Fred W., and **Twohey, Helen B.**, Action of Heat on Botulinus Toxin in Canned Foods. 136
Twohey, Helen B. s. **Tanner, Fred W.**
Vas, Bernhard, Ueber das Vorkommen von Scharlachstreptokokken in der Luft. 159
Wirth, Erich, Der Erreger der akuten Mittelohrentzündung. Beitrag zur Bakteriologie des Streptococcus mucosus. 501
Worms, Werner, Vergleichende experimentelle Untersuchungen mit dem Erreger der Rattenbißkrankheit und der Mäusespirille. 195
Wurm, H., Ueber eine Milbenerkrankung der Lunge bei Macacus rhesus. 514

II. Sachverzeichnis.

Agglutination des Bac. paratyphi A. 291
— des Bac. paratyphi C. 291
—, Bakteriendifferenzierung durch dieselbe. 273
— der Hogcholerabazillen. 291
Anämie, infektiöse, bei Ratten. 522
Anaërobenzüchtung, Metallexsikkator für dieselbe. 427
—, Technik derselben. 114
Anopheles-Bekämpfung mittels Pariser-grün. 547

Bac. coli, Hämolysierungsvermögen desselben. 94
— —, serologische Einheitlichkeit desselben. 439
— enteritidis Breslau, Abgrenzung gegen Bac. paratyphi B. 453
— — Gärtner, Ursache einer Meningitis. 22
— paratyphi A, agglutinatorische Beziehungen. 291
— — B, Abgrenzung gegen Bac. enteritidis Breslau. 453
— — —, Nachweis in Leitungswasser. 7
— — —, neuer Stamm. 129
— — —, Variabilitätserscheinungen bei einem neuen Stamm. 282
— — —, variierender, Ursache einer Nahrungsmittelvergiftung. 9
— — C, agglutinatorische Beziehungen. 291
— — —, atypischer Stamm. 300
— — —, Variabilitätserscheinungen bei demselben. 297
— pestis, Differentialdiagnose. 484
— plurisepticus, Differentialdiagnose 484
— proteus, Bedeutung desselben bei Nahrungsmittelvergiftungen. 141
Bac. pseudotuberculosis rodentium, Differentialdiagnose. 484
— pyocyaneus, agglutinatorische Einteilung. 186
Bact. coli mutabile, hämolysierendes. 278
— pyosepticum viscosum equi, Eigenschaften. 227
Bakteriämie, Behandlung. 372
Bakterien, agglutinatorische Analyse. 273
—, anaërobe, Verfahren zur Einsporenkultur. 533
— —, Versporungsoptimum. 533
Bakteriennachweis in Harn, Galle und Duodenalsaft 407
Bakteriophage, Gewinnung aus Pankreasextrakt. 433
Blutplasma, Komplementwirkung desselben. 100
Botulinustoxin, Vorkommen in Konserven. 136

Chininprophylaxe bei Proteosoma praecox-Infektion. 507
Chironomiden, Beobachtungen über dieselben. 97
Corynebacterium parvum infectiosum. 370
Culiciden, Beobachtungen über dieselben. 97

Desinfektion, Chemie derselben. 67
Diphtheriebazillen, virulente, Nachweis durch Tierversuch. 308
—, Vorkommen in Vulva und Vagina. 20
Duodenalsaft, bakteriologische Untersuchungen. 407

Eijkmansche Gärprobe mit nitrathaltigem Wasser. 522

Eiweiß, gekochtes, Differenzierung mittels Präzipitation. 259

Färbung nach Gram, Erforschung derselben. 104
—, Vital-, s. Vitalfärbung.
Filtrationsversuche an Tuberkelbazillen. 148
Fleischvergiftung und Paratyphus. 326

Galle, bakteriologische Untersuchungen. 407
Galtstreptokokken, Morphologie und Biologie derselben. 47
Geflügelpockenkörperchen und Guarnierische Körperchen. 391
Gonorrhöe, Allgemeinfektion. 163
Gramfärbung, Erforschung. 104
Guarnierische Körperchen und Geflügelpockenkörperchen. 391

Hämolytisches Serum, Herstellung. 425
Hämorrhagische Septikämie, Differentialdiagnose zwischen den Erregern derselben. 484
Harn, bakteriologische Untersuchungen. 407
d'Herellesches Phänomen s. Bakteriophage.
Hogcholerabazillen, agglutinatorische Beziehungen. 291
Hühnertyphusbazillen, agglutinatorische Beziehungen zum Bac. typhi. 61

Immunität, erworbene, Vererbung bei Wut. 81
—, natürliche, Mechanismus derselben. 86, 411
Impfmalaria, abnorme Formen der Parasiten bei derselben. 113
Infektion, stumme, zur Beeinflussung der experimentellen Tuberkulose. 456
Influenza, Aetiologie. 477

Kamele, Rolle derselben in der Pestepidemiologie. 24
Komplement, Analyse der Eigenschaften. 419
— -Titer bei Kaninchen. 246
Komplementwirkung des Blutplasma. 100
Konserven, Vorkommen von Botulinustoxin in denselben. 136
Kropf, endemischer, Aetiologie desselben. 378

Luft, Vorkommen von Scharlachstreptokokken in derselben. 159

Macacus rhesus, Milbenerkrankung bei demselben. 514
Mäuse, weiße, Empfänglichkeit für Rotz. 37
Mäusespirille und Erreger der Rattenbißkrankheit. 195
Malaria, Impf-, s. Impfmalaria.
Malaria tertiana-Parasiten, abnorme Formen bei Impfmalaria. 113

Mastitis catarrhalis-streptococcica des Rindes, Morphologie und Biologie des Erregers derselben. 47
Meningitis, durch Bac. enteritidis Gärtner verursacht. 22
Meningokokken, Biochemie derselben. 354
Metallexsikkator zur Anaërobenzüchtung. 427
Milbenerkrankung bei Macacus rhesus. 514
Milzbrandserum, Wertbestimmung desselben. 492
Mittelohrentzündung, Erreger derselben. 501
Mundspirochäten, Beobachtungen an denselben. 42

Nahrungsmittelvergiftung durch einen variierenden Bac. paratyphi B. 9
— durch Sauerkraut. 18
— in einer Seidenspinnerei. 145
Nahrungsmittelvergiftungen, Bedeutung des Bac. proteus bei denselben. 141

Ohrentzündung, Mittel-, Erreger derselben. 501

Pankreasextrakt zur Bakteriophagengewinnung. 433
Paratyphus und Fleischvergiftung. 326
— B-Bazillen s. a. Bac. paratyphi B.
— B-Epidemie, Bakterienstämme, atypische, bei derselben. 444
— B-Gruppe, Variationserscheinungen in derselben. 9
Parisergrün zur Anophelesbekämpfung. 547
Peritonitis, Behandlung. 372
Pestepidemiologie, Rolle der Kamele in derselben. 24
Pneumokokken und Streptokokken, Beitrag zur Einheitsfrage. 304
Pocken, Guarnierische Körperchen und Geflügelpockenkörperchen. 391
Präzipitation zur Differenzierung von gekochtem Eiweiß. 259
Proteosoma praecox-Infektion, Chininprophylaxe derselben. 507
Ratte, infektiöse Anämie derselben. 522
Rattenbißkrankheit, Erreger derselben. 195
Rotz, Empfänglichkeit weißer Mäuse für denselben. 37
Ruhr, perorale Immunisierung. 311

Sauerkraut, Ursache einer Nahrungsmittelvergiftung. 18
Scharlachstreptokokken s. Streptokokken, Scharlach-.
Schutzimpfung, perorale, gegen Ruhr. 311
Seidenspinnerei, Nahrungsmittelvergiftung in derselben. 145
Septikämie, hämorrhagische, Differentialdiagnose zwischen den Erregern derselben. 484
Serum, hämolytisches, Herstellung. 425
Simuliden, Beobachtungen über dieselben. 97

Spirochätenforschung, Beitrag zu derselben. 42
Spirochäten, Mund-, Beobachtungen an denselben. 42
Streptococcus mucosus, Erreger einer akuten Mittelohrentzündung. 501
Streptokokken, Differenzierung derselben. 1
—, Galt-, Morphologie und Biologie derselben. 47
— und Pneumokokken, Beitrag zur Einheitsfrage. 304
—, Scharlach-, Vorkommen in der Luft. 159
Syphilis, Wassermannreaktion nach der Methode von Kaup. 177

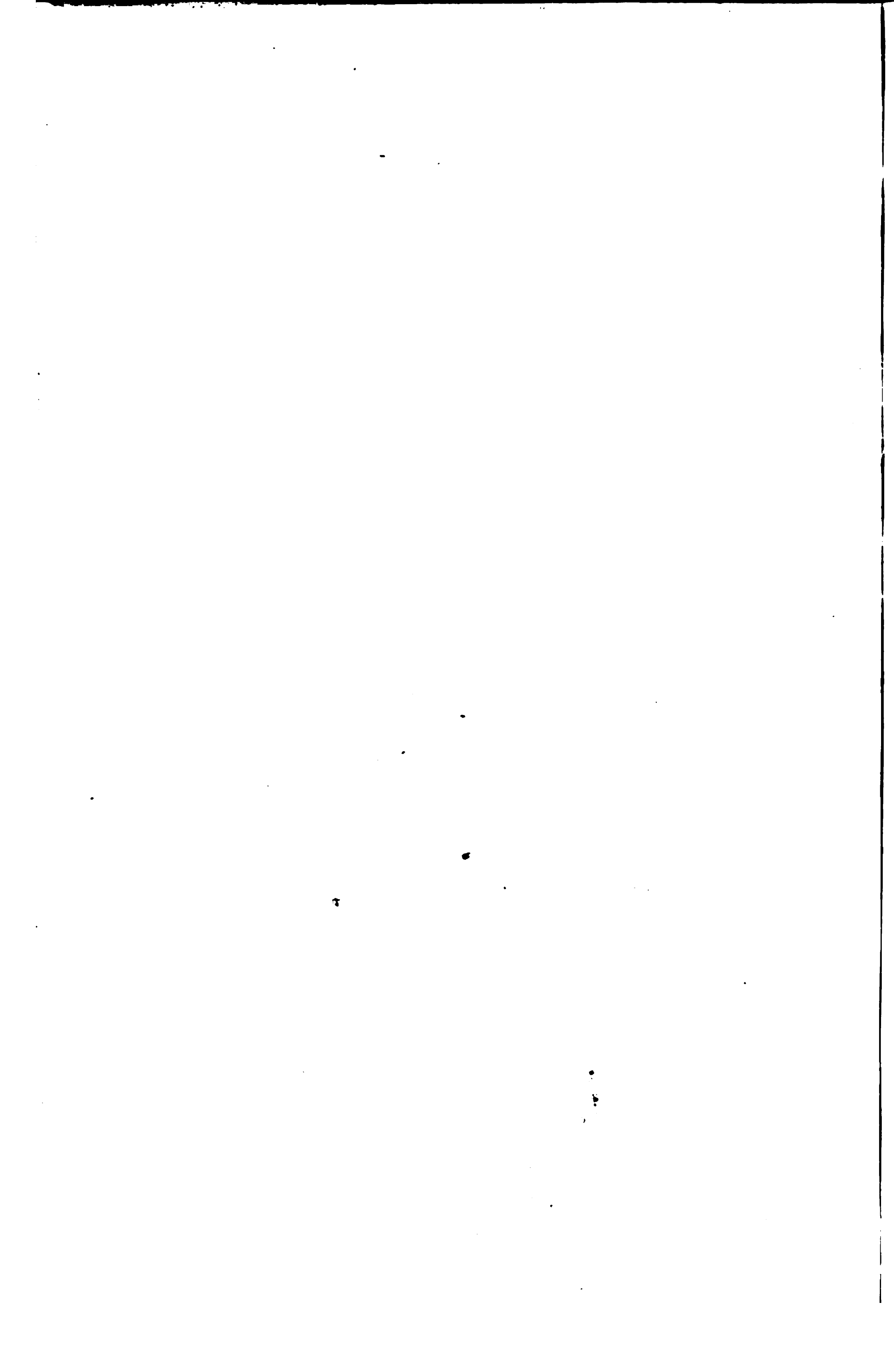
Tabaniden, Beobachtungen über dieselben. 97
Tuberkelbazillen, Filtrationsversuche. 148
—, Kultur derselben zur Tuberkulosediagnose. 460
Tuberkulose, experimentelle, Beeinflussung derselben. 456
Typhusbazillen, agglutinatorische Beziehungen zum Hühnertyphusbazillus. 61

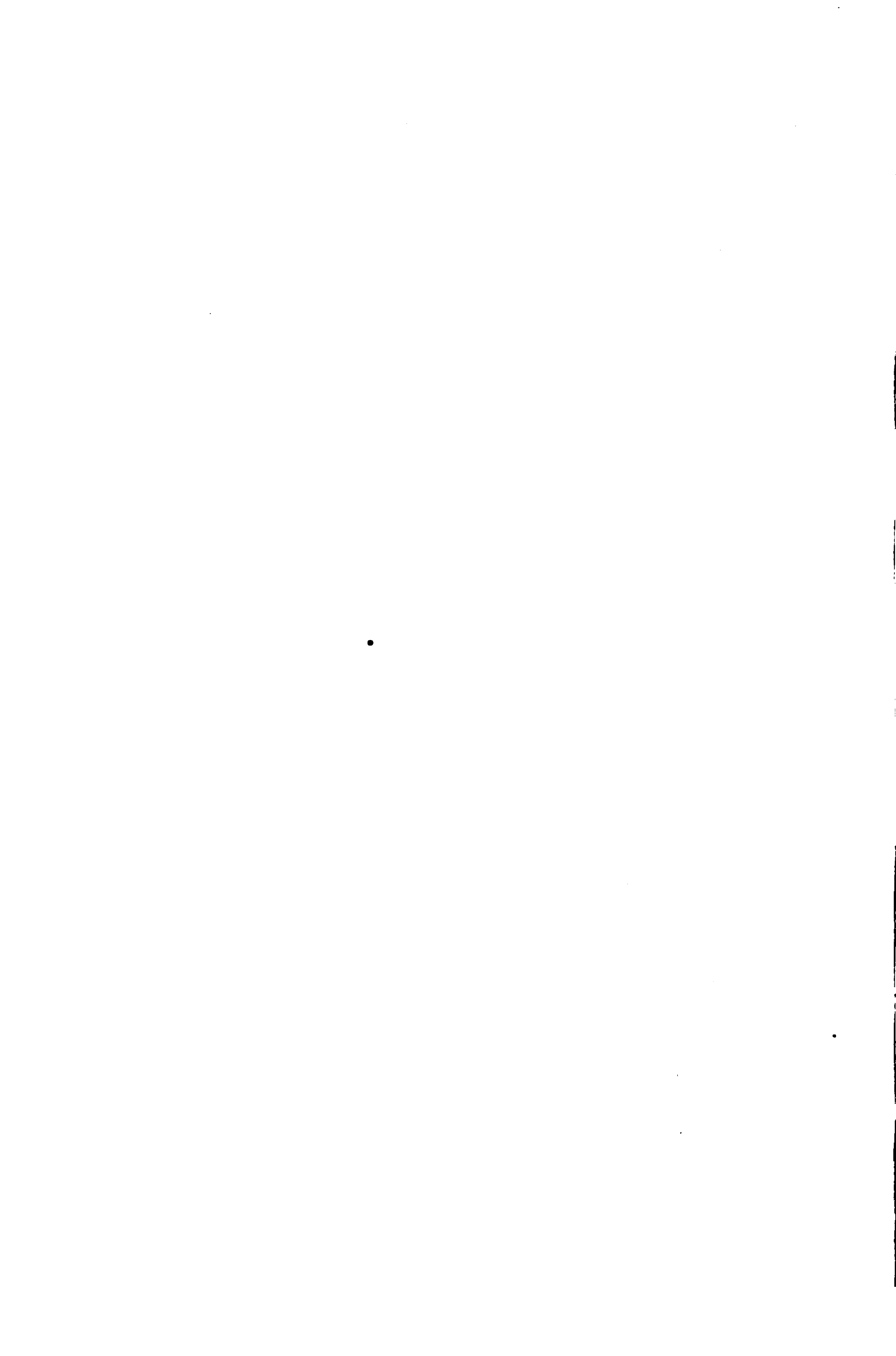
Vagina, Vorkommen von Diphtheriebazillen in derselben. 20
Vakzinetherapie bakteriämischer und peritonitischer Erkrankungen. 372
Variabilitätserscheinungen bei Bac. paratyphi B. 282
— bei Bac. paratyphi C. 297
— in der Paratyphus B-Gruppe. 9
Vitalfärbung. 67
Vulva, Vorkommen von Diphtheriebazillen in derselben. 20

Wasser, destilliertes, Herstellung desselben. 125
—, Leitungs-, Nachweis von Bac. paratyphi B in demselben. 7
—, nitrathaltiges, Eijkmansche Gärprobe mit demselben. 526
Wassermannreaktion nach der Methode von Kaup. 177
Wut, Komplementbindungsreaktion bei derselben. 216
—, postvakzinale Lähmungen, Ursache derselben. 211
—, Schutzimpfung mit ätherisiertem Virus fixe. 394
—, Vererbung der erworbenen Immunität. 81

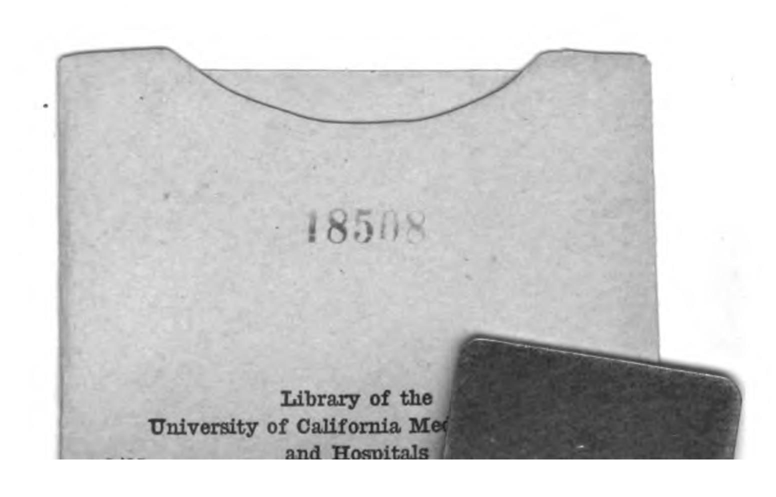
III. Verzeichnis der Abbildungen.

Bac. enteritidis Breslau, Koloniebilder. 339, 341
— — —, Mäuseinfektionen. 351, 352
— pyosepticum viscosum equi. 228—233
Corynebacterium parvum infectiosum. 370
Desinfektion, Chemie derselben. (Taf. I, II.) 80
Gramfärbung. (Taf.) 112
Kropf, endemischer, Aetiologie. 382—386
Malaria tertiana-Parasiten bei Impfmalaria. 113
Metallexsikkator zur Anaërobenzüchtung. 427
Milbenerkrankung der Lunge bei Macacus rhesus. 515—520
Milzbrandserum, Wertbestimmung desselben. 496
Rattenbißspirille. 197
Septikämie, hämorrhagische, Differentialdiagnose zwischen den Erregern derselben. (Taf. I, II.) 492
Spirochäten des Mundes. 44, 45
Wasser, destilliertes, Herstellung auf elektroosmotischem Wege. 125








18508
Library of the
University of California Me
and Hospitals

